

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Medicina Interna



**FACTORES PREDICTIVOS BASALES DE
RESPUESTA AL TRATAMIENTO COMBINADO
CON INTERFERÓN PEGILADO Y RIBAVIRINA
EN PACIENTES CON INFECCIÓN CRÓNICA POR
VIRUS DE HEPATITIS C GENOTIPO 1.**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Francisca Cuenca Alarcón

Bajo la dirección de los doctores

Manuel Díaz-Rubio
José María Ladero Quesada

Madrid, 2010

- ISBN: 978-84-692-9923-4

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA INTERNA



**FACTORES PREDICTIVOS BASALES DE
RESPUESTA AL TRATAMIENTO COMBINADO CON
INTERFERÓN PEGILADO Y RIBAVIRINA EN
PACIENTES CON INFECCIÓN CRÓNICA POR VIRUS
DE HEPATITIS C GENOTIPO 1**

TESIS DOCTORAL

Francisca Cuenca Alarcón

Madrid, 2009

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA INTERNA



**FACTORES PREDICTIVOS BASALES DE
RESPUESTA AL TRATAMIENTO COMBINADO CON
INTERFERÓN PEGILADO Y RIBAVIRINA EN
PACIENTES CON INFECCIÓN CRÓNICA POR VIRUS
DE HEPATITIS C GENOTIPO 1**

TESIS DOCTORAL presentada por D^a Francisca Cuenca Alarcón, para optar al grado de Doctor en Medicina por la Universidad Complutense de Madrid.

DIRECTORES: Prof. Dr. D. Manuel Díaz-Rubio y Prof. Dr. D. José María Ladero Quesada

Madrid, 2009

A Sébastien

A Aïtana y Paquita, las mujeres de mi vida

A Miguel y Pedro, por su estímulo y apoyo

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo no hubiera sido posible sin el constante apoyo de mis directores de tesis. Mi más sincero agradecimiento al Profesor Manuel Díaz-Rubio por la confianza que ha depositado en mi desde mi llegada al servicio de Aparato Digestivo, por su generosidad y el estímulo constante que me ha impulsado a mejorar en esta profesión y al desarrollo de este proyecto.

Al Profesor José María Ladero con el que ha sido un honor trabajar, por su sabiduría en la orientación de este trabajo, y mi gratitud además por su gran paciencia y comprensión.

A compañeros y amigos que compartís el día a día en el Hospital Clínico San Carlos.

A Cristina Fernández, Avelina Suárez y Luís Ortega de los Servicios de Medicina Preventiva, Microbiología y Anatomía Patológica, respectivamente del Hospital Clínico San Carlos por su colaboración y apoyo incondicional en el desarrollo de este proyecto.

...porque gracias a todos vosotros ha sido posible hacer este trabajo, y espero que pueda servir para mejorar nuestra práctica clínica diaria en el beneficio de la salud.

ÍNDICE

| | |
|--|----------|
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1. VIRUS DE LA HEPATITIS C | 2 |
| 1.1. Estructura genómica | 3 |
| 1.2. Epidemiología y mecanismos de transmisión | 8 |
| 1.2.1. Transmisión parenteral | 11 |
| 1.2.2. Transmisión no parenteral | 14 |
| 1.2.3. Transmisión vertical | 15 |
| 2. HISTORIA NATURAL DE LA INFECCIÓN | 15 |
| 2.1. Hepatitis aguda | 16 |
| 2.2. Hepatitis Crónica, Cirrosis Hepática y Hepatocarcinoma | 17 |
| 3. DIAGNÓSTICO | 22 |
| 3.1. Métodos de diagnóstico indirectos: Técnicas serológicas | 23 |
| 3.2. Métodos de diagnóstico directos: Viroológicos o moleculares | 27 |
| 3.2.1. Análisis cualitativos | 27 |
| 3.2.2. Análisis cuantitativos | 28 |
| 3.2.3. Determinación del genotipo | 29 |
| 3.3. Papel de la Biopsia hepática | 32 |
| 3.4 Evaluación incruenta de la fibrosis hepática | 38 |
| 4. TRATAMIENTO | 40 |
| 4.1. Objetivos del tratamiento | 40 |
| 4.2. Definiciones de respuesta | 41 |
| 4.3. Fármacos antivirales empleados | 43 |
| 4.3.1 Interferón pegilado | 43 |
| 4.3.2. Ribavirina | 50 |
| 4.4. Indicaciones y contraindicaciones del tratamiento | 54 |
| 4.5. Protocolo de valoración pretratamiento | 57 |

| | |
|--|----|
| 4.6. Seguimiento. | 60 |
| 4.7. Respuesta al tratamiento. | 61 |
| 4.8. Nuevos fármacos y opciones en el genotipo 1 | 64 |
| II. JUSTIFICACIÓN | 70 |
| III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS | 73 |
| IV. PACIENTES Y MÉTODOS | 76 |
| 1. DISEÑO DEL ESTUDIO. | 77 |
| 1.1. Tipo y ámbito del estudio. | 77 |
| 1.2. Selección de la muestra a estudio | 77 |
| 2. ESTUDIO BASAL. | 78 |
| 2.1. Datos demográficos y epidemiológicos. | 78 |
| 2.2. Determinaciones de laboratorio. | 78 |
| 2.3. Determinaciones virológicas. | 80 |
| 2.4. Biopsia hepática con control ecográfico. | 81 |
| 3. TRATAMIENTO. | 82 |
| 4. SEGUIMIENTO. | 83 |
| 4.1. Consulta médica. | 83 |
| 4.2. Determinaciones de laboratorio. | 83 |
| 4.3. Modificaciones de dosis. | 83 |
| 4.4. Suspensión del tratamiento. | 83 |
| 5. ANÁLISIS DE RESPUESTA AL TRATAMIENTO. | 86 |
| 6. MÉTODOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO | 87 |
| 6.1. Estudio descriptivo. | 87 |
| 6.2. Comparación de muestras. | 87 |
| 6.3. Descripción de las variables: cuantitativas, cualitativas. | 89 |

| | |
|--|-----|
| V. RESULTADOS. | 93 |
| 1. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA. | 94 |
| 2. FACTORES BASALES PREDICTIVOS DE RESPUESTA AL TRATAMIENTO COMBINADO CON PEG-INF Y RBV. | 99 |
| 2.1. Identificación de criterios basales predictivos de respuesta viral sostenida | 99 |
| 2.1.1. <u>Análisis univariante</u> | 99 |
| - Variables demográficas y epidemiológicas | 99 |
| - Variables dependientes del virus. | 104 |
| - Variables hematológicas y bioquímicas. | 104 |
| - Variables histológicas. | 107 |
| - Variables dependientes del tratamiento. | 107 |
| 2.1.2. <u>Análisis multivariante</u> | 114 |
| 2.2. FACTORES PREDICTIVOS DE FRACASO PRIMARIO. | 116 |
| 2.2.1. Análisis univariante | 116 |
| 2.2.2. Análisis multivariante. Ecuación pronóstica de fracaso. | 126 |
| VI. DISCUSIÓN. | 132 |
| VII. CONCLUSIONES. | 148 |
| VIII. BIBLIOGRAFÍA. | 150 |

ÍNDICE DE TABLAS

Introducción:

| | |
|--|----|
| ▪ Tabla 1: Distribución geográfica de los genotipos y subtipos. | 11 |
| ▪ Tabla 2: Técnicas serológicas de detección de Anticuerpos anti-VHC. | 24 |
| ▪ Tabla 3: Métodos moleculares de detección del VHC. | 30 |
| ▪ Tabla 4: Índice de Actividad Histológica (Índice de KNOELL). | 34 |
| ▪ Tabla 5: Índice de Actividad Histológica (HAI): Puntuación numérica de la Biopsia Hepática por componentes. | 34 |
| ▪ Tabla 6: Score modificado de Ishak. | 35 |
| ▪ Tabla 7: Sistema METAVIR. | 36 |
| ▪ TABLA 8: Criterios no invasivos de valoración indirecta del estadio de fibrosis en la hepatitis crónica por VHC. | 39 |
| ▪ Tabla 9 Dosificación de interferón pegilado alfa-2b | 47 |
| ▪ Tabla 10: Ajuste de dosis en caso de reacción adversa. | 47 |
| ▪ Tabla 11: Valoración clínica del paciente pre-tratamiento. | 59 |
| ▪ Tabla 12: Determinaciones analíticas durante el tratamiento combinado. | 60 |

Pacientes y Métodos

| | |
|--|----|
| ▪ Tabla 13: Determinaciones hematológicas. | 79 |
| ▪ Tabla 14: Esquema del seguimiento de los pacientes tratados con PEG-INF y RBV. | 85 |

| | |
|--|----|
| ▪ Tabla 15: Modificaciones de dosis de tratamiento. | 85 |
| ▪ Tabla 16: Índice de actividad necroinflamatoria o Índice de Knodell. | 91 |

Resultados

| | |
|---|-----|
| ▪ Tabla 17: Variables cuantitativas basales,N=325. | 95 |
| ▪ Tabla 18: Variables cualitativas basales. | 96 |
| ▪ Tabla 19: Variables cualitativas basales (II): datos histológicos. | 98 |
| ▪ Tabla 20: Análisis de las <u>variables cualitativas</u> basales en la respuesta al tratamiento combinado con PEG-INF más RBV N= 325 (I). | 100 |
| ▪ Tabla 20: Análisis de las <u>variables cualitativas</u> basales en la respuesta al tratamiento combinado con PEG-INF más RBV. N= 325 (II). | 101 |
| ▪ Tabla 21: Análisis de las <u>variables cuantitativas</u> basales en la respuesta al tratamiento combinado con PEG-INF más RBV. N= 325. | 102 |
| ▪ Tabla 22: Análisis de las variables cualitativas basales en la respuesta al tratamiento combinado con PEG-INF más RBV (pérdida mayor del 10%). . . | 103 |
| ▪ Tabla 23: Análisis de las variables cualitativas en la respuesta al tratamiento combinado con PEG-INF más RBV en la 2ª semana. | 103 |
| ▪ Tabla 24: Área bajo la curva del análisis univariante. | 113 |
| ▪ Tabla 25 Modelo de regresión logística para predicción de respuesta al tratamiento. | 114 |
| ▪ Tabla 26: Análisis de las variables cualitativas.basales en la respuesta al tratamiento combinado con PEG-INF más RBV N= 257 (I) y (II). | 117 |
| ▪ Tabla 27: Análisis de las variables cuantitativas basales en la respuesta al tratamiento combinado con PEG-INF más RBV N= 257. | 119 |

| | |
|--|-----|
| ▪ Tabla 28: Análisis de las variables cualitativas.basales en la respuesta al tratamiento combinado con PEG-INF más RBV (pérdida mayor del 10%). | 120 |
| ▪ Tabla 29: Área bajo la curva del análisis univariante. | 116 |
| ▪ Tabla 30: Modelo de regresión logística para predicción del fracaso terapéutico primario con variables basales y de la 2ª semana. | 126 |
| ▪ Tabla 31: Modelo de regresión logística para predicción del fracaso terapéutico primario a partir de variables basales. | 128 |
| ▪ Tabla 32: Valor a introducir en la ecuación. | 130 |
| ▪ Tabla 33: Probabilidad de fracaso primario | 131 |

ÍNDICE DE FIGURAS

Introducción

| | |
|--|----|
| Figura1: Estructura genómica del virus C. | 4 |
| Figura 2: Prevalencia de infección por VHC en el mundo. | 8 |
| Figura 3: Molécula de Ribavirina. | 51 |

Resultados

| | |
|--|-----|
| Figura 4: Edad de los pacientes de la muestra. | 97 |
| Figura 5: Respuesta viral al tratamiento combinado por intención de tratar. | 98 |
| Figura 6: Respuesta en pacientes que completaron el tratamiento. | 98 |
| Figura 7: Respuesta según sexo. | 105 |
| Figura 8: Respuesta según el subtipo viral. | 105 |
| Figura 9: Niveles basales de plaquetas. | 106 |
| Figura 10: Niveles basales de bilirrubina total. | 106 |
| Figura 11: Niveles basales de GGT | 106 |
| Figura 12: Cociente AST/ALT basal | 108 |
| Figura 13: Niveles basales de Colesterol | 108 |
| Figura 14: Respuesta según el estadio de fibrosis | 108 |
| Figuras 15-21: Curvas COR de los factores de respuesta basales | 109 |
| Figura 22: Curva COR del modelo multivariante | 115 |

| | |
|--|-----|
| Figura 23-31: Curvas COR de los factores de respuesta basales. Análisis univariante | 121 |
| Figura 32 Curva COR del modelo multivariante | 127 |
| Figura 33: Curva COR del modelo multivariante con variables basales. | 129 |
| Figura 34: Ecuación para la probabilidad de fracaso primario a partir de variables basales. | 130 |

ABREVIATURAS

Ac HBc: anticuerpos frente al core del virus B

ADN Acido desoxirribonucleico

ADVP: adicción a drogas por vía parenteral

AFP: alfafetoproteína

Ag HBs: antígeno de superficie del virus B

ALT: alanil aminotransferasa

AMA: autoanticuerpos antimitocondriales

AML: autoanticuerpos antimúsculo liso

ANA: autoanticuerpos antinucleares

Anti-VHC: anticuerpos frente al virus VHC

ARN Acido ribonucleico

AST: Aspartato transferasa

CHC carcinoma hepatocelular, hepatocarcinoma

Cociente ALT0/2semana: cociente ALT basal/ALT de la segunda semana

Col: colesterol

Complejo Ag-Ac: complejo antígeno-anticuerpo

DE: Desviación estandar

EE: Error estandar

ELISA: ensayo de enzimoimmunoanálisis

FA: Fosfatasa alcalina

Fig. : Figura

FT: Fracaso terapéutico

FVP: Fracaso viral primario

FVS: Fracaso viral secundario o Recidiva

GGT: gammaglutamil transpeptidasa

Hb: hemoglobina

HCC: hepatitis crónica por virus C

HCSC: Hospital Clínico San Carlos

IMC: Índice de masa corporal

mg: milígramo

ml: mililitro

PEG-INF: Interferón pegilado

kD: kilodalton

Kb: kilobases

NANB: no A no B

OR: Odds ratio

PCR: reacción en cadena de la polimerasa

RBV: Ribavirina

RIBA: Inmunotransferencia con antígenos recombinantes

RT-PCR: transcriptasa inversa con reacción en cadena de la polimerasa

RVP: Respuesta virológica precoz o temprana

RVR: Respuesta viral rápida

RVS: Respuesta viral sostenida

TMA: transcripción mediada por amplificación

TSH: hormona estimulante tiroidea

T4: Levo-tiroxina

VHC: virus de la hepatitis C

VIH: virus de la inmunodeficiencia humana

I. INTRODUCCIÓN

La infección crónica por el virus de la hepatitis C (VHC) es la principal causa de hepatitis crónica (HC), cirrosis y carcinoma hepatocelular (CHC) en países occidentales. Pese a que el curso parece a menudo indolente, y a que en realidad sólo una parte pequeña de los infectados llegarán a presentar las complicaciones finales de la enfermedad, en los países desarrollados es la primera causa de muerte por insuficiencia hepática y CHC, y es también el principal agente etiológico de los pacientes en lista de trasplante hepático. La infección crónica por el VHC supone en la actualidad, dada su elevada prevalencia, un problema de salud pública a escala mundial.

1. VIRUS DE LA HEPATITIS C

A mediados de los años 70 comenzó a describirse un tipo de hepatitis, muy frecuente en receptores de transfusiones sanguíneas, en los que no se encontraban marcadores serológicos de hepatitis A ni B, ni de ningún otro virus hepatotrope conocido. A este tipo de hepatitis se le denominó inicialmente hepatitis "no A, no B" (NANB). La estructura molecular del virus fue identificada en el año 1989 por Michael Houghton y sus colaboradores de la compañía Chiron Corporation (Emerville, California) tras llevar a cabo el clonado de las regiones del genoma y el desarrollo de un test para el diagnóstico de los anticuerpos, denominándose virus de la hepatitis C (1,2).

El VHC ha sido el primer virus descubierto por clonación molecular sin

el uso de métodos biológicos o biofísicos. La reconstrucción del genoma se realizó a través de la clonación de ADN complementario de muestras de ARN presentes en el suero de un chimpancé infectado. El ADN clonado se expresó en *Escherichia coli*, en busca de un clon que expresase polipéptidos que reaccionaran con los anticuerpos presentes en el suero de enfermos de hepatitis NANB. Es un virus que se inactiva con disolventes orgánicos, la luz ultravioleta y el calor.

1.1. ESTRUCTURA GENÓMICA

Se le ha clasificado dentro de la familia Flaviviridae, que comprende tres géneros: Pestivirus, Flavivirus y Hepacivirus, siendo el VHC el único miembro de este último (3,4).

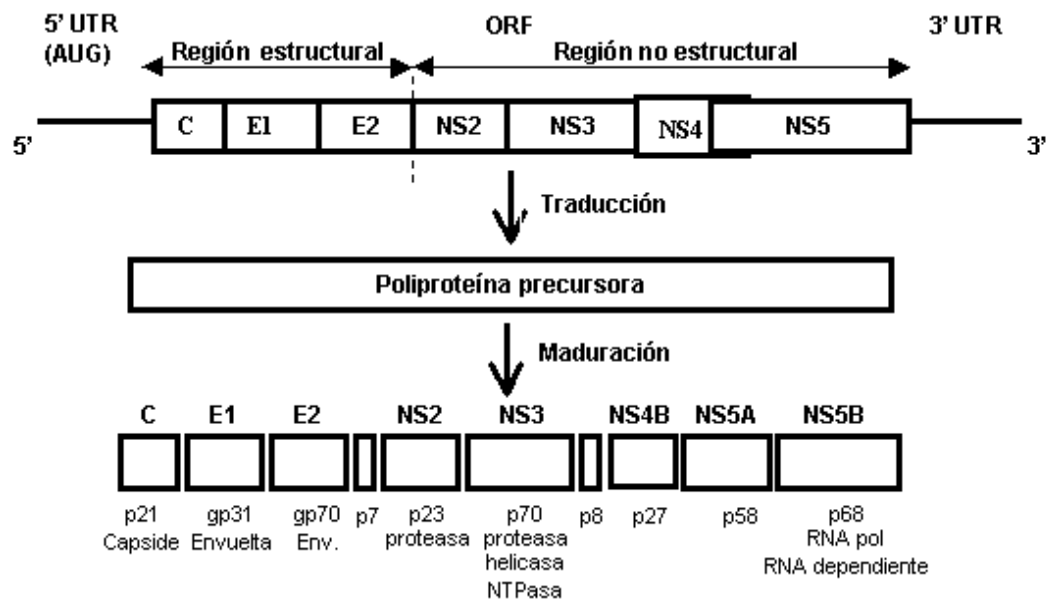
El virus se compone de una envoltura lipoproteica que recubre una nucleocápside formada por la proteína del core vírico y el genoma del virus en su interior.

El genoma consta de una cadena sencilla de ARN de polaridad positiva de 9,6 Kb con una sola región de lectura abierta (*open reading frame*, ORF) que codifica una poliproteína de 3011 aminoácidos y dos regiones no codificantes en los extremos 3' y 5' (Figura 1).

A partir de la región codificante (ORF) se forman las proteínas víricas individuales, estructurales y no estructurales.

Las **proteínas estructurales** incluyen la proteína de la nucleocápside y dos proteínas de cubierta, E1 y E2. Junto a la E2 se sintetiza una pequeña proteína de 7 kD, llamada P7, cuya función en la actualidad no es conocida.

Fig.1: Estructura genómica del virus C



La nucleocápside se sintetiza a partir de la región core (C), de 22 kD y 173 aminoácidos de longitud y participa en el ensamblaje, encapsulación y unión de las regiones E1 y E2 (5,6), y en la modulación de la respuesta inmune y supresión de la síntesis de proteínas previa al inicio de la replicación viral (7).

Las dos glicoproteínas de cubierta, E1 y E2, de 37 y 72 kD respectivamente, forman la envoltura y participan en la adhesión a las membranas celulares del huésped.

Se han descrito regiones hipervariables en E1 y E2 denominadas HVR1 y HVR2, las cuales mutan espontáneamente durante el proceso de infección del huésped. Se piensa que ésta puede ser una de las causas de la existencia de cuasiespecies en un mismo individuo.

Las **poliproteínas no estructurales** denominadas **NS2, NS3, NS4A,**

NS4B, NS5 y NS5B tienen funciones aún no completamente conocidas, aunque en su mayoría se han relacionado con el mecanismo de la replicación viral.

La región genómica NS2 codifica una autoproteasa, la NS3 tiene función serín-proteasa y ARN helicasa y es una de las regiones más estables, la proteína NS4A parece ser un cofactor de la serínproteasa codificada por la NS3. La proteína NS5A además de contribuir en la replicación viral, se sabe que participa en la resistencia de los genotipos 1 al tratamiento con interferón, por lo que es también llamada región determinante de la sensibilidad al Interferón (ISDR). La proteína NS5B parece que interviene en la síntesis de una ARN polimerasa ARN-dependiente.

El **extremo 5'**, constituido por 341 nucleótidos, juega un papel importante en el inicio de la traducción y replicación viral. Es el que se utiliza en el desarrollo de la reacción en cadena de la polimerasa diagnóstica (PCR) y por otra parte, se ha considerado la diana para el desarrollo de agentes antivirales.

El **extremo 3'**, consta de dos regiones bien definidas de 40 y 98 nucleótidos e interviene en el inicio de la replicación de la cadena de polaridad negativa y en la unión con ciertas proteínas celulares (8-11).

No se conoce con exactitud el mecanismo de replicación del VHC. Parece que una vez entra en el citoplasma de la célula huésped, perdería la cubierta y el genoma viral actuaría como un molde de transcripción de una molécula de ARN complementaria (negativa). Esta molécula negativa

serviría a su vez como un molde para la síntesis de la molécula ARN genómica (positiva). Las enzimas capaces de realizar estos pasos, serían proteínas codificadas por el propio virus.

El VHC es un virus con una marcada variabilidad genética. El grado de variabilidad no es homogéneo a lo largo de todo su genoma, ya que no todas las regiones tienen la misma capacidad de mutar. Las regiones más estables del genoma son las no codificantes, es decir, los extremos 5' y 3'. En la región de lectura abierta (ORF) los genes más estables son los que codifican las proteínas del core, NS3 y NS4, mientras que las zonas más variables, como veíamos previamente, son las que codifican la envoltura (E1 y E2/NS1), que presenta dos regiones hipervariables, y las proteínas no estructurales NS2 y NS5.

La respuesta del huésped se centra, posiblemente, sobre las proteínas de la cubierta, y los cambios en esta región hipervariable originarían modificaciones de la cubierta que permitirían al virus escapar de los anticuerpos neutralizantes sintetizados por el organismo ante su presencia, eludiendo la respuesta inmune del huésped y dando lugar a la cronificación de la infección.

Por otra parte, la gran variabilidad genética del VHC determina la dificultad de la obtención de una vacuna eficaz.

El virus de la hepatitis C es uno de los virus con mayor grado de diversidad genética que se ha estudiado hasta el momento. La heterogeneidad genética que presenta puede ser intragenómica, dando lugar

a las cuasiespecies víricas, e intergenómica, que da lugar a los genotipos y subtipos.

Los dos principales factores que explican la elevada variabilidad genética son la elevada cinética de replicación viral (10^{12} partículas diarias en la infección crónica) y la baja fidelidad de la ARN polimerasa responsable de la replicación. Siguiendo el modelo para el VIH, la probabilidad para una mutación puntual sería del orden de 10^{-4} y de una mutación doble de 10^{-11} , lo que se traducirá en la producción diaria de aproximadamente 3.300 virus distintos al virus parental. De este modo, será fácil comprender que la población que infecta a un individuo es una mezcla muy heterogénea de genomas muy relacionados entre sí, con una homología superior al 98%, denominadas **cuasiespecies**, responsables de la variabilidad intragenoma.

La variabilidad intergenoma da lugar a los conceptos de **genotipo** y **subtipo**. Se denominan **genotipos** a aquellos genomas cuyo grado de homología se encuentra entre el 66-69%; se designan con un número arábigo y, hasta el momento, se han descrito 6 genotipos mayores y hasta 11 genotipos distintos según la clasificación de Peter Simmonds (12). Dentro de un mismo genotipo, cuando el grado de homología se encuentra entre el 77-80% se habla de **subtipo**; se designan con una letra, que seguirá al número que nombra al genotipo; hasta la fecha se han descrito más de 100 subtipos distintos (3,13).

1.2. EPIDEMIOLOGÍA Y MECANISMOS DE TRANSMISIÓN

Los estudios de prevalencia se comenzaron a llevar a cabo cuando fue posible la demostración de anticuerpos frente al virus (Ac. anti-VHC) en los años 90 del siglo pasado.

La prevalencia global estimada es del 2,2%, correspondiendo a un total de 130 millones de infectados en el mundo, con una prevalencia variable según el país, Fig. 2 (14).

Figura 2: Prevalencia de infección por VHC en el mundo



Hay diferencias geográficas en los patrones de la infección por el VHC (15). Países como Estados Unidos, Australia, Turquía, Italia, Japón y el occidente europeo, incluida España, pertenecen a las regiones del mundo con prevalencias de entre el 1.0% al 1.9%, pero existen entre ellos diferencias según el grupo de edad. En Estados Unidos y Australia, la incidencia más alta se da entre los 30 y los 49 años, y comprenden los dos tercios de todas las infecciones, siendo más baja en menores de 20 y

mayores de 50 años (16-18). En contraste, en países como España, Turquía, Italia, Japón y China, la prevalencia de la infección aumenta con la edad. La población mayor de 50 años daría cuenta en estos países de la mayoría de los casos de infección. La mayor prevalencia de infección en el mundo se encuentra en zonas rurales del delta del Nilo en Egipto, donde supera el 22% de la población (19).

La incidencia de la infección por VHC (es decir, el índice de infecciones de nueva adquisición durante un periodo determinado de tiempo) es difícil de determinar ya que en la mayoría de los casos las infecciones agudas son asintomáticas, y tampoco en la mayoría de los países se recogen sistemáticamente los datos sobre casos de enfermedad aguda. Según los modelos empleados, se produjo un aumento del número de nuevos de casos entre los años 60 y 80 del siglo pasado, disminuyendo a partir de 1989, año de la identificación de los Ac. anti-VHC (20, 21).

En España la prevalencia actual de la infección parece ser mayor que la descrita en la bibliografía hasta el momento. Según un estudio de Arroyo Fernández y cols. (22) la infección está presente en el 10 % de las muertes naturales en nuestro país, alcanzando esta casi el 40% en población de prisiones españolas (23), y el 60% de las muertes relacionadas con el consumo de drogas. Esto hace que la infección crónica por virus C sea considerada en el momento actual un problema de salud pública. El 27% de las cirrosis y hasta del 65% de los casos de CHC suceden en pacientes infectados por VHC (24).

La distribución de los genotipos en el mundo es variable. En este momento existe una gran divergencia geográfica que se explicaría por los

movimientos poblacionales, el uso de drogas por vía parenteral y la contaminación por transfusiones sanguíneas. Los genotipos 1, 2 y 3 son los más extendidos, y son responsables de la mayoría de las infecciones por VHC en Europa occidental, EEUU y Japón.

El genotipo 4 es más frecuente en África del Norte y Central y Oriente Próximo. El genotipo 5 predomina en África del Sur, y del 6 al 11 en el sudeste asiático. La Tabla 1 muestra la distribución geográfica actual de los principales genotipos y subtipos del VHC.

Se debe hacer hincapié en la importancia de la variabilidad de los genotipos según los grupos de riesgo, siendo por ejemplo más frecuentes los genotipos 1a y 3a en los usuarios de drogas por vía parenteral.

En España y Europa el genotipo más frecuente es el 1b que supone el 70% y casi el 50 %, respectivamente. El genotipo 1a constituye casi un 20% en Europa, y un 10% en España. Los genotipos 2 y 3 suponen en España aproximadamente un 3 y 14%, respectivamente, y en menor frecuencia los genotipos 4 y 5 (25).

Tabla 1: Distribución geográfica de los genotipos y subtipos

| GENOTIPO | PAÍSES |
|--------------|--|
| 1a | Norteamérica, América del Sur, Australia, Europa, Tailandia, Japón |
| 1b | Europa, Taiwan, Tailandia, China, Japón, Argentina, Sudáfrica |
| 1c | Egipto |
| 2a | Japón |
| 2b | USA, Norte de Europa |
| 2c | Europa occidental, Sur de Europa |
| 3a, b | Australia, Sudeste asiático, Tailandia |
| 4a | Egipto |
| 4c | África central |
| 5a | Sudáfrica, sudeste de España |
| 6a | Hong Kong, Macao, Vietnam |

La transmisión o contagio de la infección se puede llevar a cabo de diferentes modos, y podemos dividirla en tres grandes grupos: parenteral, no parenteral y vertical.

1.2.1. Transmisión parenteral

Es el mecanismo de transmisión más relevante. Se incluyen en este grupo diferentes causas:

- Transfusional: en pacientes que recibieron sangre o hemoderivados procedentes de pacientes infectados antes de que se determinaran los marcadores del virus. Con la determinación del ARN-VHC en los bancos de sangre en numerosos países, el riesgo de transmisión en ellos es prácticamente nulo (0,01-0,001%) por unidad transfundida (26).

- Uso de drogas por vía parenteral: se encuentra relacionado con el uso compartido de jeringuillas o los materiales de preparación. Es la primera causa en pacientes menores de 45 años. Aunque los índices de infección acumulativos entre usuarios de drogas durante los primeros 2-3 años han disminuido en los últimos años, descendiendo desde el 80% a finales de los 80 hasta el 30% a finales de los 90, la incidencia entre nuevos usuarios sigue siendo alta, extendiéndose del 15 al 30% anualmente (27).

Las campañas de salud y prevención desarrolladas en Europa Occidental y en EEUU están siendo eficaces en la reducción de la incidencia y deberían ser ampliadas para la prevención del riesgo de nuevos contagios en nuevos consumidores (20).

- Hemodiálisis: la prevalencia de infección en este colectivo es del 30% (28). Aumenta la probabilidad de adquirir la infección con el número de transfusiones recibidas y el tiempo en programa de diálisis.

- Transplante de órganos: procedente de donantes infectados por VHC, que supone según Khapra y cols. (29) el 6% de los transplantes de hígado realizados entre 1988 y 2004. También se han comunicado en receptores de riñón, médula ósea y otros tejidos.

- Transmisión nosocomial: en pacientes hospitalizados que han sido sometidos a procedimientos quirúrgicos u otros procedimientos invasivos (30).

- Transmisión ocupacional: se limita al personal sanitario, y con mayor frecuencia, específicamente, al personal de enfermería. La incidencia media del seroconversion del anti-VHC tras punción con una fuente contaminada es del 1,8% (31). La transmisión a través de las mucosas es rara (32), y no se ha documentado ninguna transmisión tras exposición de piel intacta con sangre contaminada.

La incidencia de infección de VHC entre el personal sanitario no difiere de la de la población general, con un promedio del 1-2%. Más raramente, el personal sanitario ha transmitido la infección a los pacientes durante la cirugía, con una incidencia cercana al 0,5%. De mayor importancia en la extensión del VHC, son las inyecciones diagnóstico-terapéuticas inseguras realizadas por los profesionales y los no profesionales.

Se ha estimado que aproximadamente dos millones de infecciones por VHC se adquieren anualmente por inyecciones contaminadas, lo que puede explicar hasta el 40% de las infecciones en todo el mundo (33). En muchos países en vías de desarrollo, las jeringuillas estériles pueden ser inadecuadas o no existir, además a menudo se aplican inyecciones sin asegurar las medidas de asepsia. La reutilización de las jeringuillas de cristal durante las campañas de tratamiento de la esquistosomiasis en Egipto fue responsable del brote más grande de transmisión yatrógena sucedido nunca (34).

- Otras vías parenterales: como ocurre tras la realización de tatuajes y colocación de “piercings”, el uso intranasal de drogas, prácticas religiosas o culturales tales como escarificación, circuncisión y acupuntura. En la mayoría de las regiones del mundo escasean los datos que permitan determinar si estos factores de riesgo colaboran en algún grado a la tasa total de transmisión del VHC. En los países donde se han llevado a cabo estos estudios, ninguna de estas actividades se ha demostrado claramente relacionada con la transmisión de VHC (35,36).

1.2.2. Transmisión no parenteral.

- Sexual: el grado en el que el VHC es transmitido por vía sexual y bajo qué circunstancias es uno de los aspectos más polémicos de la epidemiología de la hepatitis C. Los resultados de diferentes estudios difieren. Se ha estimado que del 15 al 20 % de los casos de hepatitis aguda por VHC tendrían la transmisión sexual como única causa. Sin embargo hay poca evidencia a favor de la transmisión sexual en una pareja estable heterosexual u homosexual en los estudios transversales realizados desde el año 1990 (37). Un índice más alto de transmisión sexual durante la fase aguda de la infección (mayor carga viral) conjuntamente con una mayor frecuencia de relaciones sexuales inseguras con múltiples parejas sexuales podría explicar la desproporción de los casos descritos (18).

- Intrafamiliar: los resultados de los estudios de prevalencia son dispares, se estima en torno al 3-5%. Se ha relacionado con el uso

compartido de utensilios de aseo, como maquinillas de afeitar y cepillos de dientes (38).

1.2.3. Transmisión vertical

El índice de transmisión perinatal del VHC es del 4 al 7 % por embarazo y ocurre únicamente cuando el ARN es detectable en el suero materno durante el parto. La transmisión se relaciona con niveles más altos de carga viral, aunque los datos en este sentido son contradictorios (39). Un trabajo de parto prolongado después de la ruptura de las membranas y la monitorización fetal interna se han asociado con un riesgo aumentado de infección perinatal (39,40), así como la existencia de coinfección con el VIH (41).

El parto por vía vaginal, la cesárea y la lactancia materna no se han relacionado con mayores tasas de transmisión.

2. HISTORIA NATURAL DE LA INFECCIÓN

La infección aguda por el VHC es más a menudo un proceso paucisintomático. Tras la infección, la mayoría de los pacientes (60-80%) permanecen infectados y desarrollan de hepatitis crónica. La enfermedad progresa muy lentamente, con pocos o ningún síntoma, marcando la progresión el aumento de la fibrosis que se acumula en el hígado (42).

Aproximadamente del 20 al 30 % de individuos crónicamente infectados desarrollan cirrosis entre los 20 y los 30 años de la infección. La infección crónica por VHC está además involucrada en el desarrollo de

algunos procesos extrahepáticos como la crioglobulinemia mixta y algunos casos de glomerulonefritis y de porfiria cutánea tarda. La vinculación descrita con otros procesos de carácter autoinmune y el desarrollo de algunos linfomas B, aunque muy evidente en algunos casos, no está suficientemente demostrada.

2.1 HEPATITIS AGUDA

En la mayoría de los casos es asintomática, por lo que se desconoce la incidencia real del cuadro. El VHC es el causante de aproximadamente el 20 % de las hepatitis agudas. El ARN es perceptible en el suero por PCR desde pocos días tras la infección hasta ocho semanas después, dependiendo en parte del tamaño del inóculo. No se detectan anticuerpos en suero hasta las 10 semanas de la exposición (período ventana), y pueden persistir hasta muchos años después a pesar de la curación.

La elevación de las transaminasas se produce entre las 6 y las 12 semanas de la exposición (intervalo 1 a 26 semanas), y suele tener valores algo menores que los hallados en otras hepatitis agudas. Tiene un curso clínico larvado, los síntomas son semejantes a los de otras formas de hepatitis agudas virales, incluye malestar, náuseas y dolor en hipocondrio derecho, la ictericia está presente en menos del 25% de los casos. En pacientes que experimentan los síntomas agudos, la enfermedad dura típicamente de 2 a 12 semanas. El fracaso hepático fulminante debido a la infección aguda por VHC es muy raro, pero puede ser más común en pacientes ya infectados por virus B (43).

2.2. HEPATITIS CRÓNICA, CIRROSIS HEPÁTICA Y HEPATOCARCINOMA

La mayoría de los pacientes infectados evolucionan hacia la cronicidad (85%), sin que se conozca claramente el mecanismo responsable de esta alta prevalencia. Se ha relacionado con la diversidad genética del virus y su tendencia a la mutación rápida, permitiendo al VHC escapar constantemente del reconocimiento inmune (44).

Los factores del huésped relacionados con el aclaramiento del virus son la presencia de los alelos HLA-DRB1 y DQB1 específicos (45,46), títulos altos de anticuerpos contra las proteínas estructurales del VHC (47), la persistencia de una respuesta VHC-específica de las células T CD4 (48), y pacientes de raz blanca con niveles relativamente bajos de viremia durante la infección aguda (49).

Por lo general los pacientes con infección crónica están asintomáticos o tienen síntomas leves poco específicos como; astenia, malestar general, anorexia, molestias en hipocondrio derecho de carácter leve, mialgias, artralgias y pérdida de peso. Los síntomas raramente incapacitan y son de difícil atribución a la afectación hepática únicamente. Aunque sí se ha destacado una disminución en la calidad de vida (50), que en parte está justificado por el conocimiento del diagnóstico (51).

Hay una alta variabilidad en las concentraciones de transaminasas en suero. En un tercio de los pacientes son normales (52), el resto de los pacientes presentan una elevación leve y fluctuante de enzimas hepáticas. Sólo en un 25 % presentan una concentración de ALT mayor de dos veces

el límite de la normalidad, y es raro encontrar elevaciones mayores de 10 veces. No existe una clara correlación entre los niveles de transaminasas y la histología hepática (53). Transaminasas normales pueden asociarse con daño histológico, aunque generalmente se corresponde con grados leves (54).

La historia natural de la HCC ha sido difícil de definir a causa del largo curso de la enfermedad (55). Múltiples estudios han estimado el porcentaje de pacientes que con hepatitis crónica evolucionarán a cirrosis en los siguientes 20 años, y éste difiere entre los estudios retrospectivos oscilando entre el 17 y el 55%. Sin embargo, y más cercano probablemente a la incidencia real, en los estudios prospectivos es del 7 al 16%.

La infección no produce siempre una enfermedad progresiva. Poynard y cols. (42), en un estudio prospectivo en pacientes con infección crónica por VHC, estiman que el tiempo medio para el desarrollo de cirrosis fue de 30 años. Los autores diferencian tres patrones evolutivos: Fibrosantes lentos (31% de los pacientes), con un tiempo de progresión a cirrosis no menor a 50 años, Fibrosantes intermedios (36% de los pacientes), y Fibrosantes rápidos (33%) con un tiempo de progresión de menos de 20 años.

En otro estudio, 184 mujeres infectadas tras recibir inmunoglobulina contaminada que no recibieron tratamiento, fueron sometidas a biopsia para la valoración del grado de fibrosis. Durante el seguimiento posterior de más de 10 años, el 49 % no mostró cambios en el grado de fibrosis, el 24% una disminución y sólo el 27% presentó progresión (56, 57).

Diversos estudios han mostrado que el riesgo de progresión de la enfermedad a fibrosis avanzada o cirrosis en pacientes con transaminasas normales y fibrosis de grado 0 (ausencia de fibrosis) en la biopsia hepática es mínimo en 10 a 15 años. Este riesgo es del 5 al 10% en los que tienen transaminasas elevadas con ausencia de fibrosis y se eleva hasta entre el 30 y el 40% en aquéllos con transaminasas elevadas y fibrosis 1 (fibrosis portal) en la biopsia.

La existencia de cifras elevadas de ferritina, presente en el 20-35% de los pacientes con infección crónica por VHC, se asocia con un aumento de los depósitos de hierro de forma leve a moderada en el 10-35% de los casos, y es de localización principalmente sinusoidal (58,59,60). Este depósito de hierro en tejido hepático no se ha correlacionado sin embargo con un mayor estadio de fibrosis (60).

La razón para explicar la susceptibilidad a la progresión de la enfermedad no está bien aclarada. Se han identificado diferentes factores de riesgo asociados a una progresión más rápida hacia la cirrosis hepática, como son:

- Factores dependientes del paciente:

1. Producción de citocinas profibrogénicas (TGF β 1, angiotensina II) (61).
2. Adquisición de la infección después de los 40 años (42,62).
3. Co-infección con VIH o VHB, u otra forma de inmunosupresión subyacente (63- 67).

4. Consumo de alcohol: promueve la replicación viral y acelera el daño hepático a dosis mayores de 50 g/día, e incluso con dosis moderadas de alcohol en pacientes con esteatosis (68-70), alto índice de masa corporal y grado moderado o severo de esteatosis (71,72).

5. Consumo diario de cannabis (73).

6. La respuesta inmunitaria celular específica frente al VHC parece influir en la severidad de la afectación; sin embargo, su papel en el daño hepático no está totalmente aclarado (74). Diferentes genes en varias subregiones del HLA modulan la respuesta inflamatoria (75).

- Factores dependientes del virus:

El tamaño del inóculo no parece influir en el daño hepático. En relación con el genotipo y las cuasiespecies, los datos hasta el momento son contradictorios sin poder concluir en el momento actual que el genotipo 1b (de peor pronóstico en la respuesta al tratamiento), se relacione con una peor evolución hacia cirrosis o CHC (76-80). Algunos estudios sí la han relacionado con la existencia de co-infección por varios genotipos (76,79).

La prueba que mejor determina el pronóstico y fase evolutiva de la enfermedad es la **biopsia hepática**. La inflamación leve (daño portal o extensión periportal focal) sin fibrosis presenta un riesgo anual de desarrollo de cirrosis de sólo el 1,2%; en aquéllos con actividad moderada es de un 4,6%, siendo ésta de más del 90% a los 20 años, y por último la mayoría de

pacientes con actividad inflamatoria severa presenta cirrosis en los siguientes 10 años (81).

Aunque ningún signo, síntoma o prueba de laboratorio es determinante en el diagnóstico de cirrosis, algunos hallazgos en la exploración física y datos de laboratorio pueden sugerirlo. Puede existir una elevación de la bilirrubina sérica (40%), hipoalbuminemia (10%), trombopenia asociada a esplenomegalia. La alfafetoproteína (AFP) puede estar elevada ligeramente en la infección crónica y no implica necesariamente la presencia de carcinoma hepatocelular ni cirrosis. Hasta el 43 % de pacientes con cirrosis tienen cifras de AFP entre 10 y 100 ng/ml (82). No obstante, una concentración elevada de AFP requiere una prueba de imagen para descartar la existencia de CHC. Una elevación persistente y progresiva de AFP puede ser un indicio de malignidad oculta.

Entre el 1 y el 4% de los pacientes con cirrosis desarrollará por año un CHC (83), sin embargo el VHC es el causante de un tercio de los CHC (84). A diferencia de lo que ocurre con el VHB, el CHC aparece sobre cirrosis. A menudo la supervivencia se ve marcada no tanto por la existencia del tumor, sino por el deterioro de la función hepática y la aparición de complicaciones.

Las complicaciones están limitadas en su mayor parte a pacientes que han desarrollado cirrosis. Sin embargo, no todos los pacientes con cirrosis desarrollan estas complicaciones. Las complicaciones se presentan en un 3,9% por año. La complicación más frecuente es la ascitis, seguida por la hemorragia por varices esofágicas y la encefalopatía (82,85).

La supervivencia de un paciente con cirrosis está comprometida. Las tasas de supervivencia en pacientes con cirrosis compensada son el 92-96%, 83-91% y 79 % a los 3, 5 y 10 años (82,84). Tras la aparición de descompensación, aquéllas descienden al 57% y 50% a los 3 y 5 años, respectivamente. Cuando se presentan las mencionadas complicaciones el único tratamiento eficaz es el trasplante hepático. La supervivencia post-trasplante para el VHC es semejante al resto de causas que llevan al fracaso hepático, estimada a largo plazo en el 60-80 %.

Es frecuente la aparición de manifestaciones extrahepáticas a lo largo de la evolución de la infección. Entre las más frecuentes, la crioglobulinemia de tipo II, la glomerulonefritis membranoproliferativa, la artritis seronegativa, el síndrome de Sjögren y la porfiria cutánea tarda.

3. DIAGNÓSTICO

La búsqueda de infección crónica por el VHC forma parte del estudio de un paciente con elevación persistente de transaminasas. La clonación y secuenciación del genoma en el año 1989 permitió el desarrollo de técnicas para la identificación de Ac. anti-VHC y de fragmentos del genoma del virus en pacientes infectados.

Existen métodos diagnósticos directos (métodos moleculares o virológicos) que determinan y cuantifican el ARN viral mediante la detección de los componentes estructurales virales, y métodos indirectos entre los que se encuentran las técnicas serológicas que detectan anticuerpos específicos del VHC.

Las pruebas inmunológicas o serológicas identifican la presencia de Ac anti-VHC, que indica exposición al virus sin diferenciar entre la infección aguda, crónica y la resuelta. Sin embargo, los análisis moleculares o virológicos detectan secuencias de ácidos nucleicos virales específicos (ARN-VHC) que indican persistencia de virus (86). Mientras los análisis serológicos se emplean usualmente para el *screening* y el diagnóstico de primera línea, los análisis virológicos son necesarios para confirmar la infección activa o monitorizar los efectos del tratamiento.

3.1. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO INDIRECTOS: TÉCNICAS SEROLÓGICAS

Basadas en la determinación de anticuerpos frente a antígenos del core y proteínas no estructurales. Las principales técnicas serológicas son la Inmunoabsorción ligada a Enzimas (ELISA, Enzyme-Linked Immunosorbant Assay) y la Inmunotransferencia con antígenos recombinantes (RIBA), Tabla 2.

En la primoinfección se desarrollan anticuerpos frente al virus (inmunoglobulinas del tipo IgG), detectándose en primer lugar anticuerpos frente a las proteínas NS3 y core. Posteriormente aparecen frente al resto de proteínas víricas (87).

La técnica de **ELISA** se emplea en el cribado de primera línea y utiliza antígenos del VHC obtenidos por ingeniería genética o síntesis química, que se fijan a micropocillos. Al añadir sangre de un paciente infectado, los

Tabla 2: Técnicas serológicas de detección de Anticuerpos anti-VHC

| TÉCNICA | ANTICUERPOS |
|--------------------------------|--|
| Pruebas de despistaje: | |
| - ELISA 1ª. Generación | Anti-c 100/NS4 |
| - ELISA 2ª. generación | Anti-c22/C, anti-c200/NS3/NS4 (anti-c33 + anti-c100) |
| - ELISA 2ª. Generación | C, NS3, NS4, NS5 |
| Pruebas suplementarias: | |
| - RIBA-III 1ª. generación | Anti-c 100/NS4, ANTI-5-1 (proteínas de las regiones NS3/NS4) |
| - RIBA-III 2ª. Generación | Anti-c 100/NS4, ANTI-5-1Anti-c 100/NS4, ANTI-5-1 |
| - RIBA-III 3ª. generación | Anti-c 22/C, anti-c 100/NS3/NS4, NS5 |

anticuerpos séricos se unen a estos antígenos, y se detectan por una reacción colorimétrica o lumínica.

Hasta el momento se han desarrollado tres generaciones de ELISA, la última (ELISA-3) utilizada desde el año 1996, detecta anticuerpos dirigidos contra epítomos localizados en el core y proteínas no estructurales NS3, NS4 y NS5.

Estos métodos alcanzan una sensibilidad y especificidad diagnóstica del 98 y 99% respectivamente, consiguen una reducción del período ventana a 7-8 días y presentan una buena relación coste-beneficio (88). Los problemas vienen por la posibilidad de falsos negativos en la infección aguda (período ventana) o en pacientes inmunodeprimidos, y de falsos positivos en pacientes con hipergammaglobulinemia, enfermedades autoinmunes, alteraciones metabólicas o mujeres gestantes.

La inmunotransferencia con antígenos recombinantes o “inmunoblot” recombinante (**RIBA**) es un enzimoimmunoanálisis cualitativo *in vitro* para la detección de anticuerpos frente a proteínas individuales codificadas por el VHC. Utiliza antígenos recombinantes VHC codificados y péptidos sintéticos VHC codificados que han sido inmovilizados como bandas individuales en las tiras de análisis. Igual que el ELISA, existen tres generaciones, la tercera (RIBA-3.0) es la utilizada en la actualidad.

La muestra se diluye e incuba con la tira de análisis (SIA, tira inmunoabsorbente), si la muestra contiene anticuerpos específicos, éstos se fijarán a las correspondientes bandas de antígeno recombinante y/o péptido sintético de la tira. La tira se incuba en presencia de un conjugado de anti-

IgG humana de cabra, marcada con peroxidasa. El conjugado se fija a la porción de IgG humana del complejo Ag-Ac. Finalmente se añade un sistema colorimétrico de detección enzimática, y si el conjugado se ha fijado a la muestra, la reacción enzimática originará un producto de reacción de color azul-negro insoluble en cada banda específica de antígeno, péptido o control VHC, de diferente intensidad.

Los anticuerpos anti-VHC aparecen tanto en pacientes virémicos con infección activa como en pacientes sin viremia en los que la infección se ha resuelto, ya sea de forma espontánea o tras tratamiento antivírico. En algunos casos una determinación de anti-VHC negativa no excluye la infección por el VHC.

Esta situación puede aparecer fundamentalmente en la infección aguda por el VHC y en pacientes con infección crónica inmunodeprimidos (VIH, fallo renal, crioglobulinemia) en los que la producción de anticuerpos puede estar comprometida.

En los pacientes inmunocompetentes con resolución espontánea de la infección los anti-VHC pueden persistir positivos toda la vida o bien ir disminuyendo paulatinamente y desaparecer en algunos años.

A diferencia de otras infecciones víricas, la respuesta humoral con inmunoglobulinas tipo IgM no es exclusiva de la primoinfección, ya que se puede detectar en infecciones crónicas, por lo que este marcador no es útil para conocer el momento de la infección (89).

3.2. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DIRECTOS: VIROLÓGICOS O MOLECULARES.

La infección activa se define por la presencia de ARN-VHC que puede detectarse entre 1 y 3 semanas después de la exposición aguda. En la actualidad, disponemos de métodos de detección cualitativa y cuantitativa del ARN-VHC (86). En los pacientes con hepatitis C, la cantidad de ARN-VHC circulante en suero es limitada, por lo que es necesario amplificar la muestra o la señal de hibridación, y esto se consigue con diferentes métodos o sistemas. Entre ellos se encuentran los sistemas de transcriptasa inversa con reacción en cadena de la polimerasa (**RT-PCR**) y transcripción mediada por amplificación (**TMA**) así como el sistema “*Branched*” (bDNA), Tabla 3.

3.2.1. Análisis cualitativos

En un primer paso del ensayo cualitativo *RT-PCR*, la transcriptasa convierte el ARN en ADNc (ADN complementario) que es utilizado como molde. Los iniciadores utilizados son secuencias que corresponden a la región 5' UTR, ya que es la región más conservada del genoma. Posteriormente a la extracción del ARN de la muestra, la fase de amplificación viene seguida de la fase de detección mediante una hibridación con sonda específica. La prueba de PCR cualitativa para el ARN del VHC es muy sensible y puede detectar desde 100 copias de ARN VHC por ml (20 UI/ml).

Es útil en la evaluación de la hepatitis aguda o crónica seronegativa cuya causa se desconoce, en la enfermedad hepática crónica con varias

causas posibles (consumo de alcohol); la hepatitis crónica con niveles séricos normales de transaminasas de forma repetida, en los lactantes nacidos de madres infectadas por VHC, en los pacientes inmunocomprometidos (coinfección por VIH, trasplantados) y para monitorizar el tratamiento.

El análisis con **TMA** utiliza un sistema más complejo de reacciones con las enzimas *ARN-T-7 polimerasa* y *MLV-RT transcriptasa inversa* bajo condiciones isotérmicas de amplificación del ARN mediante intermediarios del ADN. Pueden detectar niveles muy bajos de ARN-VHC (5-10 UI/ml) que son imperceptibles con sistemas RT-PCR (90,91).

3.2.2. Análisis cuantitativos

El método del **bADN** (sistema “*Branched*”) de detección del ARN utiliza una sonda de oligonucleótidos en fase sólida que captura el blanco de ARN, seguido de una hibridación secundaria mediante una sonda ramificada (bADN). Es un método de análisis tanto cualitativo como cuantitativo. Para poner de manifiesto la reacción, se añade un complejo de enzima conjugada al que posteriormente se le agrega un sustrato, con el que la quimioluminiscencia producida es proporcional a la cantidad de ARN del blanco.

El sistema de **RT-PCR** también se utiliza para la cuantificación del ARN, añadiendo un control externo o estándar de cantidad de ARN conocida que se amplifica junto con la muestra (PCR competitiva). La comparación de

muestra y estándar nos permitirá calcular la concentración de ARN de la muestra (88).

El análisis de bADN de segunda generación es capaz de detectar alrededor de 250 mEq/ml, mientras que los de tercera generación pueden detectar 615 UI/ml. El ensayo Amplicor ofrece una medición semicuantitativa del ARN viral; el límite inferior de detección es de alrededor de 1.000 copias virales por mililitro.

Los análisis cualitativos de detección del ARN-VHC se han utilizado tanto para el diagnóstico de la infección como para evaluar la eficacia del tratamiento. Ello se debe a que estos métodos eran sensibles y detectaban menores niveles de ARN-VHC (50UI) que con el uso de análisis cuantitativos (88).

En la actualidad la detección del ARN-VHC se hace por PCR a tiempo real, que permite la amplificación y detección a la vez y es mucho más sensible y rápida que las pruebas cualitativas, con un límite inferior de detección de 15 UI/ml.

3.2.3. Determinación del genotipo

Es de carácter obligatorio en los pacientes a tratar, ya que determina la duración del tratamiento, y es el mayor factor predictivo de respuesta al tratamiento de forma global.

En función de su heterogeneidad genética, como señalamos previamente, el VHC tiene 6 genotipos y por lo menos 80 subtipos (92). El genotipo se puede determinar mediante métodos moleculares. Los métodos

moleculares están basados en la amplificación de regiones específicas del genoma (core, NS4, NS5 y el extremo 5'), ya que aquí es donde se pueden localizar con mayor exactitud las diferencias que caracterizan a los distintos genotipos y subtipos. El más utilizado, es la región 5' no codificante o región

Tabla 3: Métodos moleculares de detección del VHC

| TEST | Método | Fabricante | Límite detección (UI/ml) | Rango dinámico (UI/ml) |
|---|------------------------|-----------------------------|--------------------------|------------------------|
| CUALITATIVOS | | | | |
| <i>AMPLICOR HCV v.2.0</i> | RT-PCR, manual | ROCHE | 50 | |
| <i>COBAS AMPLICOR</i> | RT-PCR, semiautomático | ROCHE | 50 | |
| <i>VERSANT HCV RNA</i> | TMA | BAYER | 10 | |
| CUANTITATIVOS | | | | |
| <i>COBAS AMPLICOR HCV MONITOR v.2.0</i> | RT-PCR semiautomático | ROCHE | | 600-850.000 |
| <i>VERSANT HCV RNA v.3.0</i> | bADN | BAYER | | 615-8.000.000 |
| <i>COBAS TaqMan HCV</i> | RT-PCR en tiempo real | ROCHE | | 15-69.000.000 |
| <i>LCxTM HCV RNA</i> | RT-PCR | ABBOTT | | 23-2.630.000 |
| <i>PCR en tiempo real HCV ensayo cuantitativo</i> | RT-PCR a tiempo real | ABBOTT | | 50-100.000.000 |
| <i>SuperQuant</i> | RT-PCR | National Genetics Institute | | 30-1.470.000 |

5'UTR, que sirve también para la determinación de ARN-VHC (cualitativa o cuantitativa) que estemos usando de rutina en el laboratorio, ya que la mayoría de estos métodos amplifican dicha región.

Existen diferentes métodos comerciales que permiten determinar los genotipos.

Versant HCV Genotype 2.0 Assay (*Bayer Diagnostics*), es un método LiPA que identifica los genotipos 1 a 6 del VHC y los subtipos en muestras de suero humano o de plasma EDTA. Está basado en la hibridación reversa; una vez obtenido el amplificado de la región 5'UTR y core del ARN-VHC, se hibrida en sondas de oligonucleótidos inmovilizados. Las sondas que están adheridas a una tira de nitrocelulosa por una cola de poly(dT) son específicas de las regiones 5'UTR y core de los diferentes genotipos del VHC. Después del paso de la hibridación, se lava el producto de PCR sin hibridar de la tira, y se une estreptavidina marcada con fosfatasa alcalina (conjugado) al híbrido biotilado. El cromógeno BCIP/NBT (sustrato) reacciona con el complejo estreptavidina-fosfatasa alcalina para formar un precipitado de color morado/marrón, que produce un patrón de bandas visible en la tira.

Como alternativa a los métodos moleculares se han propuesto diversos sistemas serológicos para la determinación del serotipo infectante. Estos sistemas no se han impuesto, en gran parte debido a la escasa especificidad para la discriminación de la mayoría de los subtipos, a la falta de sensibilidad (más del 20 % de las muestras no son tipificables), y a problemas de reactividad cruzada, lo que origina un gran número de

resultados discordantes. Además, mediante estas técnicas se detectan con mayor frecuencia infecciones mixtas.

Mediante métodos moleculares podemos estudiar las cuasiespecies virales. Para ello no existen técnicas comerciales y los métodos de laboratorio son laboriosos y complejos. La mejor aproximación a este estudio consiste en amplificar la región hipervariable (E2) y clonar el producto de PCR, para posteriormente secuenciar un número suficiente de clones (generalmente se acepta el 10%) y establecer el número de secuencias diferentes, que corresponderán al número de cuasiespecies (mayoritarias) presentes en la muestra. Puesto que esta técnica es extremadamente compleja, se recurre a métodos de relativa menor complejidad que se basan en la amplificación de la región hipervariable para posteriormente evaluar el número de cuasiespecies presentes en la muestra mediante **SSCP** (*single stranded conformation polymorphism*) o HA (*heteroduplex analysis*) (93).

3.3. PAPEL DE LA BIOPSIA HEPÁTICA

El análisis histológico determina el grado de la lesión hepática, permitiéndonos establecer el pronóstico de la infección, la urgencia e indicación del tratamiento, y predecir la respuesta al mismo. Sigue siendo una técnica recomendada en las guías terapéuticas sobre el tratamiento de la HCC (94), y puede poner de manifiesto la existencia de otras causas coexistentes de enfermedad hepática que no hubieran sido sospechadas en el paciente.

Sin embargo, la biopsia hepática tiene la limitación de ser una prueba invasiva y no es considerada como un requisito obligado para el tratamiento. En los pacientes con genotipo 2 o 3, con tasas de respuesta al tratamiento elevadas, la biopsia no es generalmente necesaria para tomar una decisión en relación con el tratamiento. En pacientes con infección por genotipo 1, una biopsia hepática es útil si hay poca evidencia clínica de enfermedad avanzada y si el paciente tiene la duda de someterse a tratamiento. Para los pacientes que quieren terapia independientemente de la gravedad de la enfermedad o para aquellos con evidencia clínica de fibrosis o enfermedad progresiva, la terapia puede iniciarse sin biopsia.

Las lesiones histológicas se distribuyen desde cambios mínimos inflamatorios hasta la cirrosis. La lesión histológica más frecuente está caracterizada por la existencia de un infiltrado inflamatorio (fundamentalmente población linfocitaria) en los espacios porta y en el parénquima periportal, asociado a una necrosis más o menos extensa de los hepatocitos de la membrana limitante (hepatitis de la interfase) con aparición de diferentes grados de fibrosis. Las clasificaciones histológicas más utilizadas son el Índice de actividad histológica o índice de Knodell (IAH), Tablas 4 y 5 (95), que valora la necrosis, la inflamación y la fibrosis, la puntuación modificada de Ishak (96), Tabla 6, la clasificación de Scheuer (97), y el sistema METAVIR, Tabla 7 (98).

| Componente | Rango de puntos |
|--|-----------------|
| 1. Necrosis periportal con o sin necrosis puente | 0 - 10 |
| 2. Degeneración intralobular y necrosis focal | 0 - 4 |
| 3. Inflamación portal | 0 - 4 |
| 4. Fibrosis | 0 - 4 |

[illegible]

Tabla 6: Score modificado de Ishak

| Lesión histológica | Ptos |
|---|-------------|
| Hepatitis de la interfase periseptal o periportal (Necrosis piecemeal) | |
| Ninguna | 0 |
| Leve (focal, pocas áreas portales) | 1 |
| Leve/Moderada (focal, varias áreas portales) | 2 |
| Moderada (continua < 50% de los tractos o septos) | 3 |
| Severa (continuo >50% de tractos o septos) | 4 |
| Necrosis confluyente | |
| Ninguna | 0 |
| Necrosis confluyente focal | 1 |
| Necrosis de la zona 3 en algunas áreas | 2 |
| Necrosis de la zona 3 en varias áreas | 3 |
| Necrosis de la zona 3 + puentes porto-centrales ocasionales | 4 |
| Necrosis de la zona 3 + puentes porto-centrales múltiples | 5 |
| Necrosis multiacinar o panacinar | 6 |
| Necrosis focal, apoptosis e inflamación focal | |
| Ninguna | 0 |
| 1 foco o menos por 10x objetivo | 1 |
| 2 a 4 focos por 10x objetivo | 2 |
| 5 a 10 focos por 10x objetivo | 3 |
| Más de 10 focos por 10x objetivo | 4 |
| Inflamación portal | |
| Ninguna | 0 |
| Leve, algunas o todas las áreas portales | 1 |
| Moderada, algunas o todas las áreas portales | 2 |
| Moderada/marcada, todas las áreas portales | 3 |
| Marcada, todas las areas portales | 4 |
| Estadios Ishak | |
| No fibrosis | 0 |
| Fibrosis de algunas áreas portales, con o sin septos cortos | 1 |
| Fibrosis de la mayoría de áreas portales, con o sin septos cortos | 2 |
| Fibrosis de la mayoría de áreas portales con ocasionales puentes porto-portales | 3 |
| Expansión fibrosa de áreas portales con marcados puentes (portoportales y portocentrale) | 4 |
| Marcados puentes (porto-portales y/o porto-centrales) con nódulos ocasionales | 5 |
| Cirrosis | 6 |

Tabla 7: Sistema METAVIR

| Necrosis Progresiva | + | Necrosis Lobular | = | Puntuación de Actividad Histológica |
|------------------------|---|--------------------|---|-------------------------------------|
| 0 (ninguna) | + | 0 (ninguna o leve) | = | 0 (ninguna) |
| 0 | | 1 (moderada) | | 1 (leve) |
| 0 | | 2 (grave) | | 2 (moderada) |
| 1 (leve) | | 0,1 | | 1 |
| 1 | | 2 | | 2 |
| 2 (moderada) | | 0,1 | | 2 |
| 2 | | 2 | | 3 (grave) |
| 3 (grave) | | 0,1,2 | | 3 |
| Puntuación de Fibrosis | | | | |
| Puntuación | Descripción | | | |
| 0 | Sin fibrosis | | | |
| 1 | Ampliación del tracto portal pero sin formación de tabiques | | | |
| 2 | Ampliación del tracto portal con rara formación de tabiques | | | |
| 3 | Numerosos tabiques sin cirrosis | | | |
| 4 | Cirrosis | | | |

Pese a la importancia de los datos obtenidos con la misma, en el momento actual la biopsia hepática ha dejado de ser un requisito obligatorio para el tratamiento (94).

La presencia de transaminasas persistentemente elevadas nos indica que la enfermedad se encuentra en actividad, que es potencialmente progresiva y que por tanto requiere tratamiento (99), por esto el mismo será necesario probablemente con independencia de las lesiones histológicas. Por el contrario, en los pacientes con ALT persistentemente normal, la biopsia suele mostrar lesiones mínimas (100), poco activas y poco evolutivas (101-104), por lo que se ha considerado que ni la biopsia hepática ni el tratamiento serían necesarios. Dado que en la mayoría de los estudios existe un pequeño porcentaje de pacientes en los que teniendo la ALT normal, la biopsia muestra lesiones avanzadas (99), se plantea en dichos pacientes la determinación del grado de lesión histológica, ya que se beneficiarían del tratamiento. En la actualidad, el desarrollo de nuevas técnicas de valoración de la fibrosis hepática, puede, en muchos casos, sustituir la biopsia hepática en la decisión de tratar (105).

Podemos de forma general prescindir de la biopsia hepática previa al tratamiento, si un paciente la rechaza, en los genotipos 2 y 3 y cuando la indicación del tratamiento no sea la hepatopatía (personal sanitario, futuras madres infectadas, crioglobulinemia, coinfectados VHC/VIH) (94,106).

La biopsia hepática como apoyo a la decisión terapéutica está indicada si la ALT es normal o está poco elevada; si las pruebas no invasivas no son concluyentes del estadio de la enfermedad, si el paciente desea conocer el grado de la lesión hepática, ante factores que hacen

predecir una mala respuesta al tratamiento, y es de ayuda en la toma de decisiones en el genotipo 1.

3.4. EVALUACIÓN INCRUENTA DE LA FIBROSIS HEPÁTICA

La biopsia hepática es un método cruento, no exento de complicaciones y con frecuencia mal aceptado por los enfermos. Por otra parte, no es la prueba de referencia perfecta, ya que valora una fracción muy pequeña del hígado y la hepatitis C es un proceso difuso, pero no homogéneo. Parte de estos inconvenientes pueden obviarse mediante el empleo de diversos sistemas de puntuación que incluyen en una ecuación factores clínicos o analíticos que guardan una relación comprobada con el estadio de fibrosis. Todos los criterios publicados hasta el momento incluyen la cifra de plaquetas, que está inversamente relacionada con el estadio de fibrosis. En la Tabla 8 se resumen los criterios más utilizados y los parámetros que incluyen. Recientemente, nuestro grupo ha integrado en alguno de estos criterios la cifra de ferritina, lo que mejora su sensibilidad a la hora de identificar a los enfermos con fibrosis nula o leve.

Un método que está alcanzando bastante difusión es la elastografía transitoria (Fibroscán), que mide la rigidez hepática mediante el registro de la respuesta tisular a una onda de choque. Es una exploración sencilla, que no supone molestias ni riesgos para el paciente y que tiene su máxima eficacia en la detección de los estadios extremos, pero es menos sensible y específica para la detección de los estadios intermedios, que es el mismo problema que plantean los métodos de puntuación citados anteriormente.

TABLA 8: Criterios no invasivos de valoración indirecta del estadio de fibrosis en la hepatitis crónica por VHC

| Criterio | Referencia | Parámetros incluidos | | | | | | | | |
|--------------|------------------|----------------------|------|-----|-----|---------|-----|-----|-----|-------|
| | | Plaqa | Edad | AST | ALT | AST/ALT | GGT | Col | INR | γglob |
| 1/plaquetas | Stauber, 2007a | ♣ | | | | | | | | |
| API | Poynard, 1997b | ♣ | ♣ | | | | | | | |
| CDS | Bonacini, 1997c | ♣ | | | | ♣ | | | ♣ | |
| Forns | Forns, 2002d | ♣ | ♣ | | | | ♣ | ♣ | | |
| APRI | Wai, 2003 e | ♣ | | ♣ | | | | | | |
| Model-3 | Lok, 2005 f | ♣ | | | | ♣ | | | ♣ | |
| GUCI | Islam, 2005 g | ♣ | | ♣ | | | | | ♣ | |
| FIB-4 | Sterling, 2006 h | ♣ | ♣ | ♣ | ♣ | | | | | |
| Fibroindex | Koda, 2007 i | ♣ | | ♣ | | | | | | ♣ |
| King's score | Cross, 2009 j | ♣ | ♣ | ♣ | | | | | ♣ | |

Plaqa : Plaquetas, Col : Colesterol, γglob: γ-globulina

(a) Stauber RE y cols. World J Gastroenterol 2007;13:4287-94. (b) Poynard T y cols. J Viral Hepatol 1997;4:199-208. (c) Bonacini M y cols. Am J Gastroenterol 1997;92:1302-04. (d) Fornis X y cols. Hepatology 2002;36:986-92. (e) Wai CT y cols. Hepatology 2003;38:518-26. (f) Lok ASF y cols. Hepatology 2005;42:282-92. (g) Islam S y cols. Scand J Gastroenterol 2005;40:867-72. (h) Sterling RK y cols. Hepatology 2006;43:1317-25. (i) Koda M y cols. Hepatology 2007;45:297-306. (j) Cross TJS y cols. J Hepatol (Suppl 1) 46:S202.

4. TRATAMIENTO

La alta prevalencia de infección y de las complicaciones derivadas del desarrollo de cirrosis hace que en las últimas décadas se vengan desarrollando nuevos fármacos y la combinación de los mismos, lo que ha dado lugar a un importante número de ensayos terapéuticos publicados. En los últimos años se ha avanzado considerablemente en el tratamiento de la hepatitis crónica por virus C y se han ido modificando sus indicaciones.

En el momento actual el tratamiento recomendado según las guías de consenso europea, americana y española es la combinación de interferón pegilado (PEG-INF) junto con Ribavirina (RBV) durante 24 semanas en los genotipos 2 y 3 y de 48 semanas para el resto de genotipos (94,106-109).

4.1. OBJETIVOS DEL TRATAMIENTO

El objetivo del tratamiento consiste en la prevención de las complicaciones tardías de la enfermedad, y esto se consigue fundamentalmente cuando se logra la erradicación de la infección, que es el objetivo principal del tratamiento. Actualmente, y aunque algunos trabajos sugieren que puede detectarse ocasionalmente material genético del VHC en sujetos teóricamente curados de la infección (110), ésta puede considerarse erradicada cuando se alcanza una situación de respuesta virológica sostenida (RVS), definida como la ausencia de ARN del VHC en el suero de un paciente 6 meses después de haber finalizado el tratamiento.

Los beneficios a largo plazo de la RVS son evidentes, y se ha demostrado que va seguida de mejoría de las lesiones histológicas

hepáticas, incluyendo el estadio de fibrosis, como se demostró en un estudio con 1509 pacientes de tres ensayos controlados aleatorizados en los que se realizó biopsia hepática antes y después de la terapia combinada (111,112). Algunas comunicaciones sugieren que incluso los sujetos con grado avanzado de enfermedad hepática que logran erradicar la infección experimentan una mejoría en los parámetros de función hepática (113), lo que a largo plazo se traduce en una disminución del número de hepatocarcinomas y en una reducción de la mortalidad de causa hepática (114).

4.2. DEFINICIONES DE RESPUESTA AL TRATAMIENTO COMBINADO

Se considera que un paciente ha respondido al tratamiento cuando se produce una respuesta viral sostenida. Se han establecido hablado clásicamente de tres tipos respuesta, bioquímica (normalización de transaminasas), virológica (negativización del ARN-VHC) e histológica (mejoría de al menos dos puntos del grado de actividad histológica), pero en la actualidad, la determinación de la respuesta se centra en la determinación virológica.

Las definiciones de la respuesta al tratamiento combinado en la actualidad son las siguientes:

- RESPUESTA VIRAL SOSTENIDA (RVS):

Ausencia de ARN-VHC en plasma (< 50 UI/ml) 24 semanas después de completar el tratamiento.

- RESPUESTA VIRAL RÁPIDA (RVR):

ARN-VHC indetectable en la semana 4 y mantenida en la semana 24. Más del 90 % de los enfermos infectados por genotipo 1 que consiguen RVR obtienen respuesta viral sostenida.

- RESPUESTA VIRAL PRECOZ O TEMPRANA (RVP):

Concepto aplicable especialmente a los genotipos virales 1 y 4.

a) **Completa:** Niveles indetectables en la 12ª semana. Este evento es predictivo de respuesta viral sostenida en el 69 % de los pacientes (115).

b) **Parcial:** ARN-VHC detectable en la semana 12 del tratamiento, pero con una reducción $\geq 2 \log_{10}$, con negativización de la viremia en la semana 24. Se ha comprobado que este tipo de respuesta va seguido de una alta tasa de recidiva al 6º mes de finalizado el tratamiento (115).

- FRACASO VIRAL PRIMARIO (FVP):

Descenso de la carga viral $\leq 2 \log_{10}$ en la semana 12 o carga viral detectable en cualquier concentración en la semana 24. Aplicable especialmente a sujetos infectados con genotipos 1 y 4. Supone la suspensión del tratamiento según las guías actuales de tratamiento.

- RECIDIVA O FRACASO VIRAL SECUNDARIO (FVS):

Reaparición de ARN-VHC 24 semanas de finalizar el tratamiento, después de haberse negativizado o descendido en más de 2 log en la semana 12 y negativizado en la semana 24 del inicio del tratamiento.

4.3. FÁRMACOS ANTIVÍRICOS EMPLEADOS

4.3.1. Interferón alfa Pegilado (PEG-INF)

El interferón fue empleado por primera vez en forma de interferón alfa en monoterapia en el tratamiento de pacientes con hepatitis crónica NoA-NoB de origen postransfusional en 1986 (116) con tasas de RVS del 8-15%.

El interferon alfa actúa sobre receptores de membrana de los hepatocitos, causando la transcripción de múltiples complejos interferón-ARNm que sale del núcleo y codifica proteínas que alteran el metabolismo celular e interfieren con la replicación viral y la síntesis de proteínas, inhibiendo de esta forma la replicación del VHC (117).

A partir del año 1994 comienza el empleo de RBV en tratamiento combinado (118). Esta combinación llevó las tasas de RVS globales al 35-43% (119,120). La presencia de más de un 60% de fracasos se relacionó con la corta vida media del interferón (8-10 horas), con fluctuaciones en las concentraciones séricas y aparición de mutantes.

La unión de polietilenglicol a la molécula de interferón reduce la velocidad de absorción y disminuye el aclaramiento renal y celular, de manera que consigue un aumento de su vida media y de su biodisponibilidad sin pérdida de su actividad biológica, y esto se traduce en un aumento significativo de la tasa de RVS. En la actualidad, están comercializados dos interferones pegilados, uno basado en interferón alfa-2b, unido a una cadena lineal de polietilenglicol de 12 kD (PEG-Intron®, Schering-Plough Corporation), y otro en interferón alfa-2a, unido a una cadena ramificada de 40 kD (Pegasys®, Roche Pharmaceuticals). En ambos casos su prolongada

vida media permite administrarlos en una sola dosis semanal por vía subcutánea.

Aunque las dos formas de interferón difieran en su farmacocinética, no está claro que estas diferencias tengan implicaciones clínicas importantes. Los ensayos realizados hasta el momento no encuentran diferencias en la actividad antivírica entre ambas fórmulas de PEG-INF (121). Se han encontrado, sin embargo, diferencias en la tasa de efectos adversos con implicaciones clínicas y en la repercusión sobre calidad de vida, siendo mayor en los tratados con PEG-INF alfa-2b (121,122).

La eficacia de los PEG-INFs, tanto del alfa-2b (12 kD) como del alfa-2a (40 kD), asociados a RBV ha logrado un índice de RVS mejor que cualquier otro intento terapéutico ensayado hasta la fecha (108,123-127), por ello, esta asociación está considerada en la actualidad el tratamiento estándar de elección de la HCC (109).

En estudios aleatorizados analizando el genotipo y la duración y dosis óptima del tratamiento se demuestra, como con los interferones convencionales, que el tratamiento debe ser de 48 semanas para los genotipos 1, 4, 5 y 6 y de 24 semanas para los genotipos 2 y 3 (108,128-133).

La indicación, la duración y la dosis de RBV a emplear en el tratamiento combinado con PEG-INF, se deciden por tanto según el genotipo. En la actualidad se acepta que se debe ofrecer el tratamiento combinado, en ausencia de contraindicaciones, a todos los pacientes infectados con genotipo 2 ó 3 ya que la posibilidad de obtener una respuesta

virológica sostenida es superior al 70%-80%, y es suficiente tratar durante 24 semanas y con dosis de RBV de 800 mg/día. Sin embargo, en los pacientes infectados por el genotipo 1 (y probablemente también el 4) las posibilidades de obtener una respuesta sostenida son del 40-45% y el tratamiento ha de prolongarse hasta 48 semanas y la dosis de RBV debe ajustarse entre 1000 mg/d y 1200 mg/día, en función del peso corporal.

Ya en los primeros estudios de registro se demostró que el tratamiento debe suspenderse a las 12 semanas si no se ha hecho indetectable el ARN-VHC, o si su nivel no ha descendido al menos en 100 veces ($2 \log_{10}$ UI/ml), ya que es prácticamente seguro que no se va a conseguir respuesta viral sostenida, incluso en aquellos pacientes que negativizan el ARN-VHC en la semana 24. Esta norma de conducta tiene importantes implicaciones clínicas y económicas y debe respetarse sistemáticamente. Estos estudios confirmaron también la importancia que tiene el buen cumplimiento terapéutico y el haber recibido una dosis adecuada de RBV para lograr las mejores tasas de RVS.

Estudios posteriores han sugerido para el subgrupo de pacientes con genotipos 2 y 3 que muestran una negativización muy rápida de la carga viral, que se puede reducir la duración de la terapia sin sacrificar la eficacia, pero esto debería demostrarse sólidamente antes de llevarse a la práctica clínica diaria (56,134-136).

Los datos disponibles para pacientes infectados con genotipo 5 o 6 son limitados, por consiguiente se recomienda el tratamiento combinado con PEG-INF y RBV a dosis de 1000 mg/1200 mg durante 48 semanas, igual que en los genotipos 1 y 4.

La **dosis** recomendada en el adulto (40 kD) es de 180 µg/semana (Fried, y cols., 2002), independientemente del peso corporal del paciente. La dosis del PEG-INF alfa-2b (12 kD) debe ajustarse al peso, de modo que se administren 1,5 µ g/Kg. a la semana (137), Tabla 9.

La dosis debe ajustarse ante la aparición de determinados **efectos adversos** en un número pequeño de pacientes, (Tabla 10).

Se puede considerar el aumento de la dosis hasta la dosis inicial o cercana a ella una vez que disminuye la gravedad de la reacción adversa.

La manera más rentable que tenemos en la actualidad para conseguir un aumento de eficacia es utilizar mejor los recursos de los que disponemos a través de una disminución de la tasa de abandono del tratamiento. Esta tasa, que en algunos estudios de registro supera el 25%, puede reducirse significativamente si el paciente conoce antes de recibir el tratamiento los efectos adversos que previsiblemente puede presentar, tiene un apoyo adecuado de su médico y se emplean con él todos los recursos disponibles para minimizar estos efectos. El buen cumplimiento terapéutico es clave para el éxito del tratamiento, y esto es particularmente importante en las primeras 10-20 semanas del mismo.

Tabla 9 Dosificación de interferón pegilado alfa-2b

| Peso | Vial utilizable | Dosis a administrar | Volumen a administrar |
|-----------|-----------------|---------------------|-----------------------|
| < 40 Kg. | 50 µg | 50 µg | 0.5 ml |
| 40-60 Kg. | 80 µg | 64-80 µg | 0.4-0.5 ml |
| 61-75 Kg. | 100 µg | 96-100 µg | 0.4-0.5 ml |
| 75-85 Kg. | 120 µg | 120 µg | 0.4 ml |
| > 85 Kg. | 100+50 µg | 150 µg | 0.5 ml |

Tabla 10: Ajuste de dosis en caso de reacción adversa

| Prueba de laboratorio | Reducir RBV a 600 mg/d | Reducir PEG-INF a mitad de dosis | Suspender tratamiento |
|-------------------------------------|---|----------------------------------|---|
| Hemoglobina | < 10 g/dl | - | < 8,5 g/dl |
| Hemoglobina con cardiopatía estable | Disminución ≥ 2 g/dl durante 4 semanas de tratamiento (reducción permanente) | | < 12 g/dl tras 4 semanas a dosis reducida |
| Leucocitos | - | < $1,5 \times 10^9$ /l | < 1×10^9 /l |
| Neutrófilos | - | < $0,75 \times 10^9$ /l | < $0,5 \times 10^9$ /l |
| Plaquetas | - | < 50×10^9 /l | < 25×10^9 /l |
| Bilirrubina directa | - | - | 2,5 x LSN |
| Bilirrubina indirecta | >5 mg/dl | - | >4 mg/dl (4 semanas) |
| Creatinina | - | - | > 2 mg/dl |
| ALT/AST | - | - | > 2 x el valor basal y > 10 x LSN |

LSN: límite superior de la normalidad

Ambos interferones pegilados son relativamente seguros y muestran un perfil de efectos indeseables parecido al de los interferones no pegilados. El síndrome pseudogripal es el más frecuente de ellos, y desaparece habitualmente en 36-48 h. Los cambios en el estado de ánimo, sobre todo la depresión, fundamentalmente en el último trimestre del tratamiento, son menos frecuentes que con los interferones convencionales. La neutropenia y la trombocitopenia muestran, por el contrario, una incidencia similar, aunque el efecto suele ser menos intenso a partir del segundo mes del tratamiento.

La neutropenia aparece en un 20% de los tratados, no suele asociarse al desarrollo de infecciones bacterianas y generalmente se controla cuando se reduce, si es preciso, la dosis del interferón (Tabla 10). El uso de factores estimulantes de colonias de granulocitos (Filgrastim) se ha ensayado con resultados satisfactorios en pacientes coinfectados con VIH y trasplantados que reciben tratamiento frente al VHC (138). En un reciente estudio en población mono infectada se tuvo que emplear Filgrastim y/o Darbepoetina en el 52% de los pacientes obteniéndose una mejora de la RVS (139). Los resultados hasta la fecha parecen indicar que son bien tolerados y eficaces pero hacen falta más estudios que lo corroboren. Se recomienda reducir la dosis si el recuento de neutrófilos es menor de 750/ μ l. En pacientes con recuento absoluto de neutrófilos menor de 500/ μ l se debe suspender el tratamiento (Tabla 10).

La trombocitopenia es menos frecuente, generalmente no se asocia a cuadros hemorrágicos y obliga a menos modificaciones y abandonos excepto en pacientes cirróticos con hiperesplenismo. La disminución de la

dosis de interferón se recomienda cuando las plaquetas descienden por debajo de 50.000/ μ l y la suspensión del tratamiento cuando alcanzan las 30.000/ μ l.

El desarrollo de síntomas depresivos es otro de los efectos adversos más frecuentes, ya que aparece en entre el 20 y el 45% de los tratados. Su detección precoz y el inicio de tratamiento antidepresivo es importante para mejorar la calidad de vida del paciente, su cumplimiento terapéutico y, en último término, la tasa de RVS.

Se han descrito alteraciones en la función tiroidea durante el tratamiento con interferón, tanto hipotiroidismo como hipertiroidismo, este último reflejando en ocasiones una exacerbación de una tiroiditis autoinmune y en otras apareciendo *de novo*. El hipotiroidismo no obliga a suspender el tratamiento, pero el hipertiroidismo sí, y las concentraciones de hormonas tiroideas han de controlarse con frecuencia a lo largo del tratamiento.

En nuestra experiencia (140) el 14 % de los pacientes tuvieron que suspender el tratamiento por efectos secundarios, de los cuales los hematológicos fueron los más frecuentes (37%), sobre todo por neutropenia (la mitad de los casos). Por efectos generales y subjetivos (25%), seguido de efectos neuropsiquiátricos (22%) y cutáneos (13%). Dos pacientes (3%) presentaron alteraciones tiroideas, ambos presentaron hipertiroidismo, uno de ellos precisó tratamiento sustitutivo por desarrollo posterior de hipotiroidismo.

4.3.2. Ribavirina (RBV)

Es una molécula de 1-β-D-ribofuranosyl-1H-1,2,4-triazol-3-carboxamida, un análogo nucleósido con un amplio espectro de actividad antiviral (Fig. 3), cuya fórmula es C₈H₁₂N₄O₅ y tiene un peso molecular de 244,2 daltons.

Es de administración oral y tiene una buena tolerancia. Se ha utilizado frente a otros virus ARN como el virus sincitial respiratorio. Aunque su mecanismo de acción no está completamente definido, se han descrito varios efectos como la inhibición de la inosina monofosfato deshidrogenasa a través de la depleción de los niveles intracelulares de trifosfato, la inhibición del extremo no codificante 5' del ARN, la inhibición de la ARNm-guanililtransferasa y con ello la síntesis de ARN vírico, y ARN-polimerasa, la alteración del balance entre citocinas proinflamatorias (Th1-like) y antiinflamatorias (Th2-like) (141), y la inducción de mutaciones en el ARN (142). Da lugar además, a una disminución de la infectividad del VHC (143).

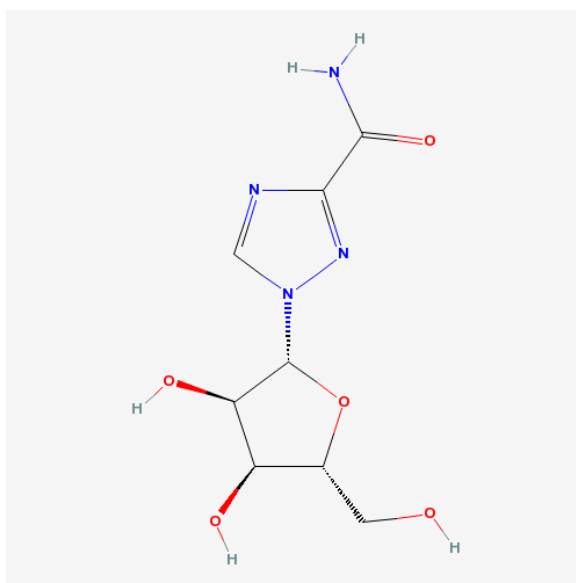
La RBV en monoterapia se ha empleado en la hepatitis crónica por VHC en múltiples ensayos, demostrando una disminución del nivel de aminotransferasas, una mejora histológica moderada durante el tratamiento (143) y una disminución de los niveles de ARN-VHC, pero es ineficaz para eliminar el ARN del VHC (145-149). La ausencia de respuesta sugiere que tiene un valor limitado en monoterapia. Un pequeño ensayo controlado sugirió su posible empleo en pacientes con fracaso a la terapia combinada (150), pero estos resultados precisan de confirmación antes de implementar esta conducta en la práctica clínica.

Su empleo inicial junto al interferón estándar mejoró considerablemente las tasas de RVS (119,120), y la reducción de dosis o suspensión empeora dichas tasas (127).

La terapia combinada con el PEG-INF ha sido aprobada para el tratamiento de pacientes con HCC, y ofrece como decíamos con anterioridad, las mejores tasas de RVS.

Las dosis administradas repartidas en dos tomas, son de 800 mg para los genotipos 2 y 3 y de 1.000-1.200 mg/día ajustadas al peso, para el resto de genotipos (150). El ajuste de dosis de la RBV al peso es un factor que mejora las tasas de respuesta (151,152), incluso se ha podido objetivar que la mayor concentración de RBV a la 4ª semana era considerado un factor predictivo de RVS (153).

Figura 3: Molécula de Ribavirina



La RBV es un fármaco por lo general bien tolerado. Los efectos adversos asociados incluyen hemólisis, astenia, depresión, insomnio, vértigo, anorexia, náuseas, congestión nasal, tos y prurito (144-146). La anemia con cifras de hemoglobina (Hb) menores de 10 g/dL, requiere la reducción de dosis y sucede en el 10 al 15% de pacientes. Es un efecto reversible tras la suspensión. El tratamiento convencional de la misma consiste en la reducción progresiva de la dosis, reduciéndola cada vez en tramos de 200 mg, a partir de los 10 g/dl de Hb y suspendiendo el tratamiento si no se consigue mantener cifras por encima de 8,5 g/dl (10 g/dl en cardiópatas), Tabla 10.

En los últimos años, a medida que se ha ido haciendo cada vez más evidente la relación entre RVS y las concentraciones séricas de RBV, especialmente en pacientes infectados por el genotipo 1, se ha ido adoptando una actitud más activa tratando de evitar en lo posible la reducción de la dosis a expensas de utilizar estimuladores de la eritropoyesis. El estudio de Del Río y cols. (154), demuestra que el empleo de factores de crecimiento eritrocitarios es, en pacientes con anemia por el tratamiento combinado, coste-efectivo en los pacientes con genotipos 1, 2 y 3.

La **dosis** de RBV se debe reducir a 600 mg/día (200 mg por la mañana y 400 mg por la noche) en las siguientes situaciones: 1) pacientes sin cardiopatía grave que experimenten un descenso de la Hb menor a 10 g/dl pero igual o mayor a 8,5 g/dl; o 2) pacientes con enfermedad cardiovascular estable que experimenten un descenso de la Hb de más de 2 g/dl durante al menos 4 semanas consecutivas, en cualquier momento del

tratamiento. No se recomienda volver a administrar la dosis original. La administración de RBV se suspenderá en cualquiera de estos casos: 1) pacientes sin enfermedad cardiovascular grave que experimenten un descenso de la Hb con cifras de menos de 8,5 g/dl; 2) pacientes con enfermedad cardiovascular estable cuyos valores de Hb se mantienen por debajo de 12 g/dl a pesar de administrar una dosis reducida durante 4 semanas. Si la anemia revierte, se puede reanudar el tratamiento con RBV a dosis de 600 mg al día e incrementarla hasta 800 según la evolución.

A consecuencia de la hemólisis se puede producir un aumento moderado y reversible de las cifras de bilirrubina y de ácido úrico que no requieren ajuste del tratamiento.

La RBV es teratógena y se pueden encontrar concentraciones en gónadas hasta seis meses después del tratamiento. Por esta razón, es imprescindible la contracepción estricta. La terapia combinada tiene un riesgo aumentado de efectos secundarios como náuseas, erupción cutánea y disnea comparada con el tratamiento con interferón en monoterapia (120,155). Sin embargo, un metaanálisis y otros estudios sugieren que la incidencia de efectos secundarios graves no es apreciablemente diferente (119,123, 155).

La RBV está contraindicada en pacientes con insuficiencia renal. Sin embargo se emplea en ciertos casos en los que se pueden mantener cifras de hemoglobina normales, con un control estrecho de la misma y a dosis menores, también en pacientes con insuficiencia renal terminal en diálisis pendientes de trasplante renal. Son pacientes que suelen presentar en el curso del tratamiento un mayor número de efectos secundarios (156,157).

4.4. INDICACIONES Y CONTRAINDICACIONES DEL TRATAMIENTO

Aunque inicialmente toda persona infectada por el VHC podría ser considerada candidata a recibir tratamiento antiviral, no se pueden olvidar los efectos indeseables del tratamiento, a veces graves. Además, teniendo en cuenta que el tratamiento actual logra de forma global una erradicación en torno al 50% de los casos, que es costoso, y que tan sólo una parte de los pacientes no tratados alcanzará una situación avanzada de la enfermedad que reduzca sus expectativas de vida, se explica que desde hace años, y fundamentalmente en pacientes con genotipo 1, se venga intentando definir *cuál es la subpoblación de pacientes infectados por el VHC que deben recibir tratamiento* y en quiénes puede demorarse su prescripción.

La indicación de tratamiento se irá universalizando a todos los pacientes infectados a medida que los tratamientos sean más eficaces, mejor tolerados y más económicos.

Se debe tratar a pacientes con ARN-VHC detectable en suero y que presentan fibrosis y actividad necroinflamatoria en la biopsia, sobre todo si tienen transaminasas elevadas de forma permanente o fluctuante.

Dada la evolución benigna de la enfermedad ante la ausencia de fibrosis y baja actividad necroinflamatoria en los pacientes con transaminasas normales, éstos podrían ser considerados como candidatos a recibir tratamiento solamente en el contexto de ensayos clínicos o cuando el propio paciente lo solicitara asumiendo las posibles complicaciones derivadas de esta actitud. La realización de una biopsia hepática unos 5

años después de la inicial para evaluar si hay progresión de la enfermedad podría ser una alternativa para estos pacientes (158,159).

Las indicaciones generales para el tratamiento de la hepatitis crónica por virus C están descritas por la Conferencia de consenso de la NIH (National Institutes of Health), sustentado por las guías de tratamiento de la *American Association for the study of Liver Diseases* (94), de la *American Gastroenterological Association* (109) y de la española (106,107), es el paciente que ha cumplido 18 años, con deseo de ser tratado y sin contraindicaciones para el tratamiento, que presenta niveles detectables de ARN-VHC séricos con evidencia de hepatitis crónica (por elevación de los niveles de ALT o por la presencia actividad necroinflamatoria considerable y fibrosis en la biopsia hepática).

Los pacientes con cirrosis hepática compensada no deben ser excluidos como candidatos al tratamiento, aunque la tasa de RVS que presentan es más baja que la de los pacientes no cirróticos (4). La erradicación en estos pacientes conlleva una disminución del riesgo de desarrollo de CHC (161). Sin embargo, a medida que progresa la enfermedad, el tratamiento de estos pacientes se complica, especialmente por la aparición de trombocitopenia, y el tratamiento llega a estar contraindicado.

Los pacientes que no respondieron o recidivaron tras recibir un tratamiento con interferón convencional en *monoterapia* son candidatos a recibir tratamiento con PEG-INF y RBV por la baja tasa de respuesta que se obtenía con la primera pauta de tratamiento. Las tasas de RVS globales son

menores, según varios estudios y un metaanálisis que incluyó nueve ensayos controlados, oscila del 14 al 23% (161-165).

Los pacientes que no respondieron o que recidivaron tras recibir tratamiento previo con interferón convencional asociado a RBV constituyen una población que plantea importantes problemas terapéuticos. La mayoría son sujetos infectados por el genotipo 1, con carga viral alta y con lesiones de fibrosis avanzada o cirrosis. En espera de nuevas opciones terapéuticas, dado que son pacientes con mayor riesgo de desarrollar hepatocarcinoma y con una mayor mortalidad (114), se emplea el PEG-INF y la RBV. La tasa de aclaramiento de la infección se sitúa en entre el 18 y el 20% para el total de estos pacientes, con una mejor respuesta en aquellos con recidiva que en los fracasos primarios, con tasas de RVS menores del 10% (166-170).

El esquema terapéutico para **pacientes no respondedores** a la terapia combinada vigente no está definido en el momento actual y va a depender de la severidad de la enfermedad (estadio de fibrosis), de la tolerancia al tratamiento precedente o de la disminución eventual de dosis durante el mismo, del tipo de respuesta al tratamiento previo, así como de la motivación del paciente.

Las opciones actuales incluyen desde la observación, la inclusión en ensayos clínicos con nuevos fármacos u ofrecer un nuevo ciclo de tratamiento tratando de corregir los factores que pudieran haber incidido negativamente en la respuesta al anterior. La opción de realizar un tratamiento de mantenimiento con dosis bajas de PEG-INF ha quedado descartada tras los resultados negativos del estudio HALT-C (113,170).

La terapia combinada puede ser útil en pacientes que desarrollan infección por VHC tras el transplante hepático, extremando la vigilancia y la intervención sobre los posibles efectos secundarios.

La terapia combinada está **contraindicada** en pacientes con:

- Hipersensibilidad al principio activo.
- Hepatitis autoinmune, otras enfermedades autoinmunes no controladas.
- Enfermedades malignas.
- EPOC grave.
- Disfunción hepática grave o cirrosis descompensada.
- Recién nacidos y niños de hasta 3 años.
- Embarazo y lactancia materna.
- Antecedentes de cardiopatía grave, incluida la cardiopatía inestable o no controlada durante los seis meses previos.
- Trastorno psiquiátrico grave o no controlado.
- Enfermedad cerebrovascular.
- Adicción activa a drogas o alcohol

4.5. PROTOCOLO DE VALORACIÓN PRETRATAMIENTO

Cuando nos encontramos ante un posible candidato al tratamiento combinado, hemos de realizar una estrecha valoración de su situación clínica, Tabla 11.

Se debe descartar la existencia de otras causas de afección hepática, entre ellas la existencia de co-infección por VHB y VIH. Se debe realizar la determinación del antígeno de superficie del virus B, así como los anticuerpos de superficie y del core. Está recomendada la vacunación en aquellos pacientes no inmunizados frente a la hepatitis B. Si la ferritina sérica o la saturación de transferrina se encuentran elevadas es necesario descartar la existencia de hemocromatosis hereditaria, y considerar la conveniencia de realizar biopsia hepática para determinar el contenido hepático de hierro, además del estudio histológico habitual.

El tratamiento con interferón puede exacerbar desórdenes autoinmunes. No está contraindicado el tratamiento en pacientes con enfermedad tiroidea o diabetes mellitus, sin embargo, pacientes con enfermedades autoinmunes severas, como por ejemplo psoriasis, enfermedad de Crohn, o artritis reumatoide no deben recibir terapia combinada a menos que se encuentren en situación de estabilidad, y que el no tratamiento de la enfermedad hepática suponga un peor pronóstico. La decisión de tratar debe tomarse en colaboración estrecha con el médico que siga dichas enfermedades, con un control estrecho de la reaparición de síntomas de recidiva.

Todos pacientes deben ser evaluados para descartar desórdenes psiquiátricos, especialmente aquellos que conllevan un mayor riesgo para la depresión y el suicidio. Los desórdenes psiquiátricos incontrolables son una contraindicación absoluta. Los pacientes con desórdenes psiquiátricos en remisión o estables pueden recibir la terapia antiviral, con un seguimiento estrecho de los síntomas psiquiátricos durante el tratamiento.

Tabla 11: Valoración clínica del paciente pre-tratamiento

| Necesario |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"> ▪ Historia médica, complicaciones hepáticas, enfermedad extrahepática ▪ Historia psiquiátrica o de consumo de drogas o alcohol ▪ Marcadores bioquímicos de daño hepático: ALT, AST, GGT, albúmina, bilirrubina, tiempo de protrombina. ▪ Hemograma, Ferritina, hierro, saturación de transferrina ▪ Hormonas tiroideas ▪ Creatinina, glucosa o hemoglobina glicosilada (HbA_{1c}) en diabéticos ▪ Autoanticuerpos no organoespecíficos ▪ Serología VIH, HBsAg, anti-HBc, anti-HBs, anti-VHA ▪ ARN-VHC cuantitativo, Genotipo del VHC ▪ Historia de tratamiento previo y respuesta ▪ ECG en enfermedad cardíaca previa y valoración por cardiólogo. |
| Recomendado |
| <ul style="list-style-type: none"> ▪ Biopsia hepática (fundamentalmente en genotipos 1 y 4 en ausencia de datos clínicos de cirrosis o transaminasas normales) ▪ Examen ocular en pacientes hipertensos o diabéticos |

La valoración oftalmológica debe realizarse en pacientes con larga historia de hipertensión arterial, y en pacientes diabéticos, antes del inicio del tratamiento, así como en pacientes que desarrollen durante el tratamiento cualquier signo o síntoma de afectación de la retina o nervio óptico.

4.6. SEGUIMIENTO

Durante el tratamiento se realiza un seguimiento periódico para la evaluación de aparición de efectos adversos, la adherencia al tratamiento y la respuesta. Los intervalos de monitorización, de acuerdo con la práctica habitual en nuestra unidad, se encuentran reflejados en la Tabla 12. Muchas veces el seguimiento puede variar según las necesidades de ajuste farmacológico y reacciones adversas.

Tabla 12: Determinaciones analíticas durante el tratamiento combinado

| Parámetro | Intervalo |
|--|---|
| Recuento celular (GR, GB, Plaquetas) | Antes, mensual a partir de la 2ª sem |
| Creatinina. Glucemia. Perfil hepático incluyendo transaminasas | Antes, mensual a partir de la 2ª sem |
| Hormonas tiroideas | Antes, cada 6 semanas |
| Cuantificación ARN-VHC - Genotipos 1 y 4 - Genotipos 2 y 3 | Semanas 4, 12 y 24 (hasta que sea indetectable) y 24 semanas después de la finalización Recomendable en semana 4 y obligado 24 semanas después de la finalización. |
| Valoración de efectos adversos y cumplimiento | En cada visita a consulta |

GR:hematíes, GB:leucocitos

4.7. RESPUESTA AL TRATAMIENTO

La eficacia de los PEG-INFs, tanto del alfa-2b (12 kD, PEG-INTRON[®]) como del alfa-2a (40 kD, PEGASYS[®]), asociados a RBV ha logrado un índice de RVS mejor que cualquier otro intento terapéutico ensayado hasta la fecha (108,123-127,171), por ello, esta asociación está considerada en la actualidad el tratamiento estándar de elección de la HCC (109).

Se obtiene respuesta viral sostenida en un porcentaje que varía con la frecuencia de los distintos genotipos, siendo en el estudio de Hadziyannis y cols. (108) del 63 %. Si diferenciamos por genotipos, las tasas de erradicación son del 40% para el genotipo 1, 60% el genotipo 4, 70% en el genotipo 3 y 80% en el genotipo 2. Estas cifras son muy similares a las obtenidas por nuestro grupo en una serie de 560 enfermos, aunque nuestros resultados en el genotipo 4 son bastante peores que los comunicados por otros autores (172).

En estudios aleatorizados analizando el genotipo y la duración y dosis óptima del tratamiento se demuestra, como con los interferones convencionales, que el tratamiento debe durar 48 semanas para los genotipos 1, 4, 5 y 6 y 24 semanas para los genotipos 2 y 3 (108,128-133,173,174).

La indicación, la duración y la dosis de RBV a emplear en el tratamiento combinado con PEG-INF, se deciden por tanto según el genotipo. En la actualidad se acepta que se debe ofrecer el tratamiento combinado (PEG-INF+RBV), en ausencia de contraindicaciones, a todos los pacientes infectados con genotipo 2 o 3 ya que la posibilidad de obtener una

respuesta virológica sostenida es superior al 70%-80%, es suficiente tratar durante 24 semanas y con una dosis de 800 mg/día de RBV. Sin embargo, en los pacientes infectados por el genotipo 1 (y probablemente también el 4) las posibilidades de obtener una respuesta sostenida es del 40-45%, el tratamiento ha de prolongarse hasta 48 semanas y la dosis de RBV debe ajustarse al peso, entre 1000 mg/d y 1200 mg/d.

Las tasas de respuesta viral sostenida son heterogéneas y se ven influidas por un amplio número de factores (175). Se han realizado múltiples estudios para el análisis de los factores que influyen en la respuesta con PEG-INF y RBV (108,119,120,126,171,176-177).

El **genotipo**, el estadio de **fibrosis** y la **carga viral basal** son los principales marcadores de respuesta viral sostenida (108,119,120,125, 126,176,178-180,185,186).

Se ha venido considerando como carga viral alta la que supera las 800.000 UI/ml, pero recientemente se ha propuesto el límite de 400.000 UI/ml (método COBAS TaqMan®) como un mejor punto de corte discriminante (187,188).

Otros factores de menor impacto son la **edad**, el **sexo**, la **raza**, el **índice de masa corporal**, la **resistencia insulínica**, la concentración de **proteínas totales** y la **esteatosis hepática** (108,119,120,125,126,171,176-178,180-185,189-191). Recientemente se ha señalado la influencia del consumo de alcohol y de una dieta rica en ácidos grasos poliinsaturados sobre el fracaso terapéutico (192).

La marcada variabilidad genética del VHC está ampliamente demostrada. Se explica por la combinación de la falta o error de lectura de la ARN polimerasa ARN-dependiente y por la alta tasa de replicación viral, que incrementan mucho las probabilidades de mutación ($1,4 \times 10^3$ a $1,9 \times 10^3$ sustituciones por nucleótido/año) (193). De esta manera se entiende cómo se han ido seleccionando cepas tan diversas que alcanzan un grado de diferencias en el ácido nucleico suficiente como para hablar de variantes dentro de un mismo genoma e intergenoma. Esta variabilidad tiene importantes implicaciones sobre la resistencia al tratamiento. Los estudios han detectado también el impacto potencial del polimorfismo genético vírico en la respuesta al tratamiento en pacientes infectados por el mismo genotipo. Ambas regiones estructurales y no estructurales del genoma se han visto implicadas en la resistencia a la terapia antiviral.

La IL-8, citocina proinflamatoria cuya síntesis es inducida por la región NS5A, inhibe directamente la actividad del interferón-alfa. Se han detectado niveles superiores de IL-8 en pacientes no respondedores (194).

Mutaciones en la proteína NS5A, como la región V3 se han relacionado también con la respuesta al interferón (195,196), asimismo un aumento en el número de mutaciones de la secuencia de aminoácidos de la región ISDR (*interferón sensitivity-determining region*) se ha correlacionado asimismo con la RVS en el genotipo 1b (196-199). Por el contrario, otros estudios no han encontrado que la variabilidad de las secuencias del NS5A en el genotipo 1a tenga impacto alguno en la respuesta al tratamiento (200).

La región NS3 también se ha visto implicada en la respuesta al tratamiento. Se han identificado tres clones diferentes de la región NS3 en

los genotipos 1a, 1b y 2a (Hel-1a, Hel-1b, Hel-2a), y aunque las secuencias de aminoácidos de las tres proteínas difieran por encima del 15%, existe un cambio de aminoácido en la posición 450 que es crítico para la acción helicasa. Este aminoácido es una treonina en el Hel-1a y Hel-1b (“malos respondedores”) y una isoleucina en el Hel-2a (respondedores) (200). Se ha relacionado así mismo las cuasiespecies en el genotipo 1 y sus modificaciones durante el tratamiento como factores predictivos de respuesta (202).

La respuesta en pacientes con genotipo 1 se puede mejorar de diferentes maneras, en parte ya descritas con anterioridad: mejoría del cumplimiento terapéutico estimulada con un seguimiento adecuado y control de los efectos secundarios. Empleo de factores estimulantes de colonias, en caso de citopenias, y la optimización “a la medida” de la duración del tratamiento o de las dosis en pacientes “malos respondedores”.

4.8. NUEVOS FÁRMACOS Y OPCIONES EN EL GENOTIPO 1

Los pacientes que no han respondido o que han recidivado tras recibir tratamiento previo con interferón convencional o pegilado asociado a RBV constituyen una población que ha ido incrementándose en los últimos años y que plantea importantes problemas terapéuticos. Mayoritariamente, está integrada por sujetos infectados por el genotipo 1, habitualmente con mucha carga viral y muchos de ellos con lesiones de fibrosis avanzada o cirrosis.

En el momento actual son varios los fármacos que en fase de ensayo, con diferentes mecanismos de acción, y que por lo general son empleados

en combinación con la terapia actual. La aparición de resistencias se ha descrito tras el empleo en monoterapia, sin embargo, su uso en combinación con PEG-INF y RBV se ha traducido en mejoras significativas en la actividad antiviral. La inhibición de enzimas como las proteasas, polimerasas y ribonucleasas, es el mecanismo de acción más ampliamente estudiado en los últimos años.

Los inhibidores de la proteasa NS3/4A (Telaprevir, Boceprevir) han sido los antivirales más ampliamente estudiados hasta la fecha. En ensayo clínico en fase 3 se encuentra el Telaprevir (VX-950), inhibidor de la proteasa NS3/4A (203-206). En el tratamiento de pacientes naïve el Telaprevir en combinación con PEG-IFN y RBV presenta tasas de RVS de hasta el 68% (207), y del 74% con el Boceprevir (208).

BILN-2061 (208) es otro inhibidor de la proteasa NS3/4A que disminuye la carga viral, pero se ha visto que desarrolla resistencias virales.

Los inhibidores de la ARN-polimerasa NS5B RNA dependiente, incluyen nucleósidos y no nucleósidos. **R1626** es un nucleósido en fase 2, produce en monoterapia un descenso de los niveles de ARN-VHC. Cuando se utiliza en combinación con PEG-IFN y RBV durante 4 semanas, provoca una reducción de la carga viral de 5,2 log₁₀ UI/ml (210). **R7128**, es otro profármaco análogo de la citidina, que igualmente ha demostrado una reducción del ARN-VHC en 5 log₁₀ IU/ml cuando se empleó en combinación con PEG-IFN y RBV durante 4 semanas en el tratamiento de pacientes naïve con genotipo 1 (210). **Valopicitabine** es un análogo nucleósido de la 2'-C-methylcytidine, con menor potencial de resistencias, pero presenta una menor potencia antiviral (212).

VCH-759 es un inhibidor no nucleósido de la NS5B en fase 2 de ensayo, que produce una disminución del ARN-VHC de hasta $2,5 \log_{10}$ UI/ml (213). Otros inhibidores de la proteasa y la polimerasa se encuentran en desarrollo clínico.

Es probable que en cinco años sea aprobado el primer antiviral para su uso en combinación con PEG-IFN y RBV, y se prevé que esta triple terapia presente unas tasas de RVS en el genotipo 1 del 60%.

También en ensayo se encuentran fármacos homólogos de la RBV con mayor potencia y/o menores efectos secundarios (Viramidina, Levovirina, Merimepodib-VX 497, Taribavirina) así como nuevas moléculas de interferón como el albuferón o el albinterferón alfa-2b (214).

Otro antiviral que se ha ensayado es la Amantadina que administrada junto a la terapia combinada parece mejorar las tasas de RVS en pacientes que no presentan respuesta viral precoz durante el tratamiento (215).

En la espera de futuras opciones de tratamiento, se están evaluando diversas estrategias reutilizando en ellos y de varias formas el PEG-INF y la RBV, mediante la prolongación del tratamiento con PEG-INF y RBV o modificaciones de dosis.

Varios estudios han demostrado el beneficio del tratamiento durante 72 semanas en respondedores tardíos, malos respondedores o pacientes co-infectados con el VIH (216-221) o del tratamiento individualizado según el tipo de respuesta en las primeras semanas (222).

Otro estudio reciente de Fried y cols. (223), demuestra un aumento de la tasa de RVS en pacientes “malos respondedores” al aumentar la dosis de

PEG-INF. En él, se comparan en un ensayo aleatorizado cuatro regímenes de tratamiento con dosis estándar o altas dosis de PEG-INF y RBV en pacientes naïve infectados con genotipo 1, carga viral alta (> 800.000 UI/ml) y sobrepeso. Se incluyeron 167 pacientes a los que se administró de forma aleatoria $120\text{ }\mu\text{g}$ o $180\text{ }\mu\text{g}$ /semana, con 1600 o 1200 mg/día de RBV. Los cuatro grupos fueron agrupados por sexo, edad, raza y carga viral. La mayor tasa de RVS fue obtenida en el grupo con las dosis más altas de ambos fármacos (46,8%), mientras que el grupo con dosis estándar de ambos fármacos obtuvo sólo un 28,3% de RVS. Los resultados en los otros dos grupos fueron intermedios (36,2% y 31,9% de altas dosis de PEG-INF y RBV, respectivamente). Estas diferencias se debían principalmente a la mayor tasa de recaída en los grupos con las dosis estándar de PEG-INF, más que a un mayor riesgo de fallo primario.

El retratamiento de pacientes no respondedores a un tratamiento previo se ha llevado a cabo en varios estudios. En el trabajo publicado por Diago y cols. (224), se randomizan de forma aleatorizada pacientes no respondedores a un tratamiento previo basado en una pauta combinada de interferón, para recibir PEG-INF alfa-2a con dosis de inducción de 360 , 270 o $180\text{ }\mu\text{g}$ /semana durante 12 semanas, seguido por $180\text{ }\mu\text{g}$ /semana durante 36 semanas, en combinación con RBV ($1000/1200\text{ mg / día}$). Las tasas de RVS fueron de 38%, 30% y 18%, respectivamente, con tasas de recaída de 25%, 50% y 64%, respectivamente. Los tres regímenes fueron igualmente bien tolerados. Otros trabajos sin embargo, han estudiado el aumento de dosis al inicio del tratamiento (dosis de inducción) con resultados controvertidos (199,225,226).

En otro reciente estudio, Poynard y cols. (179), tratan a pacientes que no habían respondido a la terapia con interferón estándar y RBV, mediante el ajuste de la RBV al peso, y obtiene tasas de RVS globales del 22%. Los pacientes con recaída presentaron una RVS del 38%, y los pacientes con fracaso primario del 14%.

El retratamiento de pacientes no respondedores a una primera pauta de tratamiento con terapia combinada se llevó a cabo en un estudio internacional (REPEAT study) por Jensen y Marcellin (227). Finalmente un total de 942 pacientes no respondedores al tratamiento previo con PEG-INF alfa-2b fueron tratados con PEG-INF alfa-2a durante 48 o 72 semanas con dosis habituales o con dosis de inducción en las primeras 12 semanas (360 µg), obteniéndose las mejores tasas de RVS (16%) en aquellos pacientes con dosis de inducción y 72 semanas de tratamiento (228). El mismo grupo comunica un mayor beneficio de la prolongación del tratamiento a 72 semanas en los pacientes no respondedores al tratamiento combinado previo (229).

El momento de fracaso al tratamiento combinado previo influye en la respuesta viral a un retratamiento. Pacientes que presentaron una recaída en el primer tratamiento tienen mayores posibilidades de curación con un nuevo tratamiento que aquéllos que presentaron fracaso primario (230). Esta influencia también fue estudiada por el grupo de Marcellin y cols., siguiendo el estudio REPEAT, en el que 310 pacientes con fracaso previo a tratamiento con PEG-INF alfa-2b fueron tratados posteriormente con PEG-INF alfa-2a. Los pacientes que en el primer tratamiento habían negativizado

el virus en la semana 12 presentaron en el retratamiento una mayor tasa de RVS que en los que permaneció positivo (229).

Se ha planteado el tratamiento de mantenimiento en pacientes no respondedores con el objetivo de ralentizar la evolución de la enfermedad. No existe en el momento actual ninguna evidencia que pruebe un beneficio del mismo a largo plazo, y los estudios hasta la actualidad presentan diferentes resultados (170,232,233). Son pocos los pacientes que lo toleran, sólo una minoría en estadio B o C de Child-Pugh alcanzan las 24 semanas de tratamiento, la mayoría debe abandonarlo precozmente por la aparición de efectos adversos.

Los pacientes con genotipo 1 suponen la mayoría de los pacientes no respondedores o respondedores tardíos en nuestro medio. La detección de estos pacientes a priori mediante la búsqueda de factores pronósticos basales desfavorables, hace posible una individualización del protocolo de tratamiento desde un principio y permitiría rescatar los pacientes con peores criterios pronósticos aplicando un tratamiento a medida.

II. JUSTIFICACIÓN

La evolución espontánea de la infección por el virus de la hepatitis C es, en la mayoría de los casos, a la cronicidad y a la posible aparición de complicaciones como son la cirrosis y el carcinoma hepatocelular.

La alta prevalencia de infección crónica por el virus de la hepatitis C en la población hace que ésta constituya un importante problema de salud pública en el momento actual.

La terapia combinada con PEG-INF y RBV es el tratamiento de elección en la actualidad, y no se prevé que cambie de forma significativa en los próximos 3 a 5 años, durante los cuales el interferón continuará siendo el eje sobre el que se introduzcan modificaciones menores del tratamiento.

La introducción primero de la RBV y después de las formas pegiladas de interferón ha conseguido una mejora progresiva de las tasas del respuesta al tratamiento. Sin embargo, estos resultados son todavía insatisfactorios, especialmente para los genotipos virales 1 y 4, en los cuales la tasa de respuesta viral sostenida no supera el 50 % en ninguno de los estudios publicados en poblaciones occidentales.

El genotipo viral 1 es precisamente el detectado con más frecuencia en la población española. Dado que el tratamiento induce con frecuencia efectos secundarios, siempre molestos, a veces graves y ocasionalmente irreversibles, y que su coste es elevado, sería conveniente disponer de marcadores que permitieran predecir la respuesta en un paciente concreto

antes de que iniciara la terapia, con el fin de poder seleccionar a aquellos enfermos con mayores probabilidades de obtener una respuesta viral sostenida, o al menos proporcionarles una estimación fiable de lo que pueden esperar del tratamiento.

El fracaso terapéutico puede ser de tres tipos: fracaso primario por respuesta insuficiente al tratamiento que obliga a suspender el mismo; fracaso secundario por recidiva viral tras negativizar la viremia durante el tratamiento, y suspensión por intolerancia. De estas tres posibilidades, la intolerancia es la más difícilmente predecible. La recidiva es más fácil de predecir a la vista de la evolución de la carga viral en las 12 primeras semanas de tratamiento, y ello está permitiendo introducir modificaciones en la duración o en la posología que tratan de mejorar la respuesta en este grupo de pacientes. El fracaso primario conduce inexorablemente a la suspensión del tratamiento, por imperativo de las guías clínicas en vigor, y por lo tanto no hay alternativa, de modo que la identificación de los pacientes que muy probablemente van a sufrirlo evitaría al menos someterlos a un periodo de tratamiento ineficaz, molesto y caro.

Por este motivo nos planteamos este trabajo de Tesis Doctoral con los siguientes

III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS

Una combinación adecuadamente procesada de criterios clínicos, analíticos y virológicos obtenidos antes de iniciar tratamiento antiviral combinado contra la hepatitis crónica C producida por genotipo viral 1, proporciona una fórmula matemática que permite predecir con suficiente aproximación la probabilidad que tiene un enfermo determinado de sufrir un fracaso primario tras iniciar tratamiento.

OBJETIVOS

1. Estudiar un grupo amplio y homogéneo de enfermos con hepatitis crónica por virus de la hepatitis C, genotipo1, atendidos en un mismo centro bajo criterios uniformes, con el fin de identificar los factores predictivos basales que, adecuadamente combinados, permitan predecir la probabilidad de fracaso primario al tratamiento antiviral con ribavirina e interferón pegilado.

2. Establecer una ecuación de aplicación inmediata al pronóstico individual de respuesta, basada en los factores predictivos basales identificados en el grupo estudiado.

IV. PACIENTES Y MÉTODOS

1. DISEÑO DEL ESTUDIO:

1.1. TIPO Y ÁMBITO DEL ESTUDIO

Se trata de un estudio de cohortes clínico prospectivo. El período de reclutamiento ha sido de Agosto del año 2000 a Diciembre de 2007 y el período de seguimiento hasta 24 semanas del fin de tratamiento del último paciente incluido, Abril de 2008.

El lugar de realización del estudio ha sido la Unidad de Hígado del Servicio de Aparato Digestivo (profesor Manuel Díaz-Rubio) del Hospital Clínico San Carlos de Madrid (HCSC), donde son valorados pacientes con enfermedades hepáticas sin co-infección por VIH.

El Hospital Clínico San Carlos es un hospital terciario, con acreditación para la docencia de pregrado y postgrado adscrito a la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid.

1.2. SELECCIÓN DE LA MUESTRA A ESTUDIO

Se reclutaron un total de 385 pacientes consecutivos diagnosticados de hepatitis crónica por VHC con genotipo 1 valorados en la Unidad de Hígado del Servicio de Aparato Digestivo del HCSC, y a los que se prescribió tratamiento combinado de acuerdo con las Guías internacionales de la NIH, americanas, europea y española de tratamiento, vigentes en nuestro Servicio.

2. ESTUDIO BASAL

Se recogieron los datos basales de los pacientes y del seguimiento hasta 24 semanas después del fin de tratamiento, momento del análisis de la respuesta al mismo.

2.1 DATOS DEMOGRÁFICOS Y EPIDEMIOLOGICOS: edad, sexo, vía de transmisión, talla, peso, consumo de alcohol u otras drogas y antecedentes de tratamiento previo.

2.2. DETERMINACIONES DE LABORATORIO

Se realizaron las siguientes determinaciones:

- Analítica general (Tabla 13): determinación realizada en el Servicio de Análisis clínicos de nuestro hospital.
- Autoanticuerpos no organoespecíficos (ANOE): determinación realizada en Servicio de Inmunología de nuestro hospital. Se incluyeron los siguientes; Antinucleares (ANA), Antimitocondriales (AMA), Anti-músculo liso (AML), Antimicrosomales hepato-renales (anti-LKM-1) por técnicas de inmunofluorescencia indirecta sobre triple tejido (hígado de mono, riñón de rata y células Hep-2, EuroInmun), y el confirmatorio de AMA y anti-LKM-1 por Liverdot (Palex Medical SA). En el mismo laboratorio se determinaron Crioglobulinas, mediante la extensión a 37° C, con separación del suero y mantenimiento a 4° C durante 5 días. Si son positivas, se centrifuga a 4500 rpm a 4° C durante 30 minutos para separación del crioprecipitado que tras 4 lavados con PBS frío, se cuantifica y estudia por inmunoelectroforesis. No en todos los casos, se realizó la determinación de los Antimicrosomales tiroideos y Antitiroglobulina (ATG) mediante ELISA (Aesku.Diagnostics).

Tabla 13: Determinaciones hematológicas

| PRUEBA DE LABORATORIO | VALORES DE REFERENCIA |
|--|--|
| Hemograma - Leucocitos (/μL) - Hemoglobina (g/dL) - Plaquetas (/μL) Coagulación - Act. de Protrombina (%) - Tiempo de cefalina (seg) | 4000-10.500 13.5-18 150000-450000 70-130 25-40 |
| Bioquímica - Glucosa (mg/dL) - Creatinina (mg/dL) - Colesterol (mg/dL) - AST (U/L) - ALT(U/L) - GGT (U/L) - Fosfatasa Alcalina (U/L) - BR total (directa) (mg/dL) - Ferritina (μg/L) - Hierro (μg/dL) | 60-100 0,1-1,35 140-200 5-40 5-40 1-55 30-120 0,2-1,2 (0,1-0,3) 30-350 60-160 |
| - TSH/T4 (U/mL, pg/mL) | 0,34-5,6 / 5,8-16,4 |

BR: bilirrubina

2.3. DETERMINACIONES VIROLÓGICAS

Se llevaron a cabo en muestras de sangre remitidas al Servicio de Microbiología (Hospital Clínico San Carlos) donde se centrifugan para la obtención del suero. En el protocolo de la guía clínica se precisa la positividad del RNA-VHC, el genotipo y la carga viral.

1º) DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-VHC

Se realiza inicialmente un inmunoanálisis de diagnóstico *in vitro* para la determinación cualitativa de anticuerpos Inmunoglobulina G frente al VHC en suero con el sistema ADVIA Centaur®. Es un método de análisis indirecto de tipo sándwich de doble lavado que utiliza dos antígenos del VHC codificados recombinantes el c200 (procedente de las secuencias NS3 y NS4) y el NS5 y un péptido del core sintético (c22). El método tiene una especificidad del 99,9% (IC del 95%: 99,78-99,97%) y sensibilidad del 98%. Se realiza la confirmación de la presencia de anticuerpos mediante el Test CHIRON® RIBA® HVC 3.0 SIA, enzimoimmunoanálisis cualitativo *in vitro* que utiliza antígenos recombinantes VHC codificados (c33c y NS5) y péptidos sintéticos VHC codificados (c100p, 5-1-1p, c22p) que han sido inmovilizados como bandas individuales en las tiras de ensayo.

2º) DETERMINACIÓN DEL ARN-VHC: mediante el COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HCV Test (Roche). Se realiza tras la detección y confirmación de anticuerpos frente al VHC. Es una prueba de amplificación

in vitro de ácidos nucleicos para la determinación cuantitativa del ARN-VHC. Se basa en tres procesos principales: 1. Preparación de la muestra para extraer el ARN del VHC, 2. Transcripción reversa del ARN objetivo para generar ADN complementario (ADNc) y, 3. Amplificación mediante PCR del ADNc objetivo y detección simultánea (PCR en tiempo real) de una sonda de detección oligonucleótida doblemente marcada y escindida específica del objetivo. Determina concentraciones superiores a 15 UI/mL e inferiores a 69 millones UI/mL.

Si el resultado es positivo, se realiza la determinación del genotipo.

3º) DETERMINACIÓN DEL GENOTIPO: el método de diagnóstico *in vitro* Versant® HCV Genotype 2.0, Ensayo LiPA, identifica el genotipo y el subtipo del virus en muestras de sangre.

Además se realizó a todos los pacientes la determinación de anticuerpos frente al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), el antígeno de superficie y anticuerpos frente al core del virus de la hepatitis B (VHB).

2.4. BIOPSIA HEPÁTICA CON CONTROL ECOGRÁFICO

Realizada en nuestra Unidad de Hepatología y remitida la muestra para el estudio histológico al Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Clínico San Carlos.

La biopsia hepática no es una prueba obligatoria para la inclusión en el estudio, pero el hecho de formar parte de nuestra práctica habitual, nos ha

permitido el analizar dichos resultados por separado en una proporción elevada de pacientes.

La biopsia se llevó a cabo mediante Trucut, hasta el año 2000 y posteriormente con BioPince® de 18 o 16 G con obtención de un cilindro de 20 mm. Se remitieron las muestras al Servicio de Anatomía Patológica para establecer el grado de afectación histológica según el índice de Knodell (Knodell y cols. 1981), así como determinación de hemosiderosis y/o esteatosis. Todas las muestras fueron analizadas por el mismo patólogo.

3. TRATAMIENTO

El período de tratamiento preestablecido fue de 48 semanas.

La ausencia de respuesta o carga viral detectable a las 24 semanas se definió como fracaso viral primario con la consecuente suspensión del tratamiento.

- INTERFERÓN PEGILADO (PEG-INF): administrado por vía subcutánea, una dosis semanal. En nuestro hospital están disponibles las dos fórmulas de PEG-INF disponibles en el mercado. Incluidos en guía clínica hospitalaria desde el año 1999, en el caso del PEG-INF α 2b (PEG-INTRÓN, Schering®), y el PEG-INF α 2a (PEGASYS, Roche®) desde Septiembre del año 2001, ambos se utilizan indistintamente.

Las dosis utilizadas para el PEG-INF alfa-2a son dosis fijas de 180 μ g a la semana y de PEG-INF α 2b ajustadas al peso; menos de 40 Kg: 50

µg/semana, entre 40 y 64 Kg: 80 µg/semana, entre 65 y 75 Kg: 100 µg/semana, entre 76 y 85 Kg: 120 µg/semana y mayor de 85 Kg: 150 µg/semana.

- RIBAVIRINA (Copegus®, Rebetol®, comprimidos de 200 mg): a dosis diarias ajustadas al peso; 800 mg si < 64 Kg, 1000 mg entre 65-85 Kg., y 1200 mg si exceden los 85 Kg.

4. SEGUIMIENTO (ver Tabla 14)

4.1. Consulta médica: prevista para el control de efectos secundarios, cumplimiento terapéutico y control analítico, llevada a cabo a las dos semanas, y después mensualmente, en las Consultas Externas de la Unidad de Hígado del Servicio de Aparato Digestivo del HCSC.

4.2. Determinaciones de laboratorio:

- Sistemático de sangre y bioquímica mensual, con perfil hepático, lipídico, ferritina, hormonas tiroideas durante el tratamiento y 24 semanas tras finalizarlo.

- Carga viral: en la 4ª, 12ª y 24ª semana de tratamiento y 24 semanas tras la finalización del mismo.

4.3. Modificación de dosis: según las recomendaciones establecidas para el PEG-INF y la RBV, Tabla 15.

4.4. Suspensión del tratamiento

Según la guía clínica de tratamiento, en las siguientes circunstancias:

- Aparición de efectos adversos: hematológicos (previamente descritos), alteraciones tiroideas no controlables farmacológicamente, así como alteraciones físicas y/o mentales no controlables o que supongan un riesgo vital para el paciente.
- Decisión del paciente
- Ausencia de descenso de la carga viral en 100 veces ($2 \log_{10}$) en la 12ª semana.
- Persistencia viral en la semana 24.

Tabla 14: Esquema del seguimiento de los pacientes tratados con PEG-INF y RBV

| Evaluación/procedimiento | Período de tratamiento (semana) | | | | | | | | | | | Post-tratamiento (semana) |
|---|---------------------------------|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|---------------------------|
| | 0 | 2 | 4 | 8 | 12 | 18 | 24 | 30 | 36 | 42 | 48 | |
| Historia clínica detallada | X | | | | | | | | | | | |
| Evaluación de efectos adversos | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Evaluación del cumplimiento del tratamiento | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Medicación concomitante | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Exploración física | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Ecografía abdominal | X | | | | | | | | | | | |
| Biopsia hepática (no obligada) | X | | | | | | | | | | | |
| Marcadores VHA, VHB | X | | | | | | | | | | | |
| ARN-VHC cuantitativo | X | | | | X | | X | | | | X | X |
| Genotipificación de VHC | X | | | | | | | | | | | |
| Ac VIH | X | | | | | | | | | | | |
| Hemograma | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Bioquímica | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Estudio de coagulación | X | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Función tiroidea (TSH, T4 libre) | X | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |

Tabla 15: Modificaciones de dosis de tratamiento

| Parámetro | Reducir RBV a 600 mg/d | Reducir PEG-INF (50%) | Suspender el tratamiento |
|--|--|-------------------------|--|
| Recuento Leucocitos | - | <1500/mm ³ | <1000/mm ³ |
| Recuento neutrófilos | - | <750/mm ³ | <500/mm ³ |
| Recuento de plaquetas | - | <50.000/mm ³ | <25.000/mm ³ |
| Hemoglobina - Ausencia de cardiopatía | <10 g/dl y ≥8,5 g/dl | | <8,5 g/dl |
| - Cardiopatía estable | disminución de ≥2 g/dl durante 4 semanas | | <12 g/dl a pesar de dosis reducida 4 semanas |
| Bilirrubina directa | | - | >2,5 veces la normalidad |
| Bilirrubina indirecta | > 5 mg/dL | | |

5. ANÁLISIS DE RESPUESTA AL TRATAMIENTO

Las definiciones de respuesta y fracaso empleadas:

- Respuesta viral sostenida (RVS)

Ausencia de ARN-VHC en plasma (< 50 UI/mL) 24 semanas después de completar el tratamiento.

- Respuesta viral rápida (RVR)

ARN-VHC indetectable en la semana 4 y mantenida en la semana 24. Más del 90 % de los enfermos infectados por genotipo 1 que consiguen RVR obtienen respuesta viral sostenida.

- Respuesta viral precoz o temprana (RVP). Concepto aplicable especialmente a los genotipos virales 1 y 4.

a) Completa: Niveles indetectables en la 12 semana.

b) Parcial: ARN-VHC detectable en la semana 12 del tratamiento, pero con una reducción $\geq 2 \log_{10}$, con negativización de la viremia en la semana 24.

- Fracaso viral primario (FVP)

Descenso de la carga viral $\leq 2 \log_{10}$ en la semana 12 o carga viral detectable en cualquier concentración en la semana 24. Aplicable especialmente a sujetos infectados con genotipos 1 y 4.. Supone la suspensión del tratamiento según las guías actuales de tratamiento.

- Recidiva o Fracaso viral secundario (FVS)

Reaparición de ARN-VHC 24 semanas de finalizar el tratamiento, después de haberse negativizado o descendido en más de 2 log₁₀ en la semana 12 y negativizado en la semana 24 del inicio del tratamiento.

6. MÉTODOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos han sido recogidos en una base de datos ACCESS, Microsoft Office 97, diseñada para tal fin, por los médicos adjuntos y becarios de la Unidad de Hígado del Servicio de Aparato Digestivo (HCSC), según protocolo estandarizado.

El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS, versión 15.

Para el análisis fueron excluidas aquellas variables cuya pérdida de datos fuese de al menos un 10%, a excepción de los parámetros con relevancia clínica en los resultados, que fueron analizados aparte.

6.1. ESTUDIO DESCRIPTIVO

Se ha realizado el estudio descriptivo de las variables cuantitativas, expresadas en la media y su desviación estándar (DE) o la mediana y rango intercuartil en caso de asimetría. Las variables cualitativas se recogen con su distribución de frecuencias expresada en porcentaje.

6.2. COMPARACIÓN DE MUESTRAS

La variable de efectividad del tratamiento fue la aparición de RVS.

En un primer lugar fueron incluidos para el análisis de los factores basales predictivos de respuesta global el grupo de pacientes con RVS, 137 pacientes y el de fracaso terapéutico 188 pacientes, incluidos los de fracaso viral primario (120 pacientes) y recidivantes (68 pacientes). En un segundo paso se comparó el grupo de FVP (120 pacientes) con el de RVS (137 pacientes) para determinar los factores basales predictivos de fracaso primario.

Para evaluar los factores basales predictivos de la efectividad del tratamiento se utilizaron los test de la t de Student y la U de Mann-Whitney para comparar las variables cuantitativas entre las dos muestras, y los test de la Ji cuadrada o de Fisher para analizar las diferencias entre las variables cualitativas.

Se construyeron curvas de rendimiento diagnóstico (COR) para determinar los puntos predictivos de corte en las variables cuantitativas, seleccionando el valor de máxima sensibilidad y máxima especificidad. Se presentan las áreas bajo la curva (AUC) y sus intervalos de confianza al 95%.

Se ajustaron modelos de regresión logística con el fin de encontrar un modelo jerárquico y parsimonioso que predijera la probabilidad de fracaso. Los modelos se evaluaron según la sensibilidad y la especificidad de la clasificación de los predichos. Se obtienen las fórmulas de regresión y las odds ratios ajustadas y sus intervalos de confianza del 95%.

En todos los casos, se ha rechazado la hipótesis nula en los contrastes de hipótesis con un valor de alfa menor de 0,05.

6.3. DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES

- **Cuantitativas:**

Las variables cuantitativas analizadas han sido las siguientes:

- Edad: expresada en años.
- Peso: expresada en kilogramos.
- Talla: expresada en metros
- Leucocitos: expresada en células/mm³
- Neutrófilos: expresada en células/mm³
- Plaquetas: expresada en células/mm³
- Hemoglobina: expresada en g/dL
- AST: expresada en UI/L
- ALT: expresada en UI/L
- GGT: expresada en UI/L
- Cociente AST/ALT: adimensional
- Fosfatasa alcalina: expresada en UI/L
- Bilirrubina: expresada en mg/dL
- Glucosa: expresada en mg/dL
- Creatinina: expresada en mg/dL
- Colesterol: expresada en mg/dL
- Carga viral: expresada en UI/L
- Ferritina: expresada en µg/L

- TSH: expresada en UI/mL

- T4: expresada en pg/mL

- Cualitativas

Las variables cualitativas analizadas han sido las siguientes:

- Sexo: expresada como hombre o mujer

- Genotipo: expresado como 1b, 1a, o 1 cuando es no a, no b o indeterminado.

- Carga viral: considerándose la cifra de 400.000 UI/mL el límite entre alta y baja carga.

- Vía de transmisión

- Consumo de alcohol: SI/NO

- Retratamiento: SI/NO

- Tipo de PEG-INF: interferón-pegilado $\alpha 2b$ / Interferón-pegilado $\alpha 2a$

- Esteatosis en la biopsia hepática: SI/NO

- Siderosis en la biopsia hepática: SI/NO

- Crioglobulinemia: SI/NO

- Reducción de dosis de tratamiento: SI/NO

- Índice de Knodell: que proporciona 4 ítems que reflejan necroinflamación y fibrosis, Tabla 16.

Tabla 16: Índice de actividad necroinflamatoria o Índice de Knodell

| 1. Necrosis periportal en puente | ptos | 2. Degeneración intralobular y necrosis focal | ptos | 3. Inflamación portal | ptos | 4. Fibrosis | ptos. |
|--|-------------|---|-------------|---|-------------|---|--------------|
| Ninguna | 0 | Ninguna | 0 | Sin inflamación portal | 0 | Sin fibrosis | 0 |
| Leve necrosis progresiva | 1 | Leve (cuerpos acidófilos, degeneración en balón y/o necrosis focal en <1/3 de los lóbulos o nódulos) ¹ | 1 | Leve (pocas células inflamatorias en <1/3 de los tractos portales) | 1 | Expansión fibrosa portal | 1 |
| Moderada necrosis progresiva (afecta a menos del 50% de la circunferencia de la mayoría de los tractos portales) | 3 | Moderada (afectación de 1/3 ó 2/3 de los lóbulos o nódulos) | 3 | Moderada (aumento de células inflamatorias en 1/3 ó 2/3 de los tractos portales) | 3 | Fibrosis en puente (unión porto-portal o porto-central) | 3 |
| Intensa necrosis progresiva (afecta a más del 50% de la circunferencia de la mayoría de los tractos portales) | 4 | Intensa (afectación de >2/3 de los lóbulos o nódulos) | 4 | Intensa (denso infiltrado de células inflamatorias en >2/3 de los tractos portales) | 4 | Cirrosis | 4 |
| Moderada necrosis progresiva más necrosis en puente | 5 | | | | | | |
| Intensa necrosis progresiva más necrosis en puente | 6 | | | | | | |
| Necrosis multilobular ⁴ | 10 | | | | | | |

V. RESULTADOS

1. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA

Un total de 385 pacientes infectados por VHC genotipo 1, fueron tratados con Interferón-pegilado y RBV con un seguimiento de 24 semanas tras finalizar. Fueron escogidos para el análisis los 325 pacientes que completaron el tratamiento o que debieron suspenderlo por fracaso primario, excluyéndose por tanto los pacientes con intolerancia por efectos hematológicos, físicos o psicológicos (51 pacientes, 13%) y los abandonos voluntarios (9 pacientes, 2.3%).

Las características basales de dicha población se presentan en las Tablas 17-18.

El 64,6% de los enfermos eran de sexo masculino.

La media de edad de la población estudiada fue de $47.21 \pm 10,83$ años y el rango de 16 a 70 años. El grupo de edad predominante de nuestra población fue de los 40 a 50 años. (Fig. 4).

Todos los enfermos eran de raza blanca.

El 60% de los pacientes no tenían ningún antecedente epidemiológico de contagio, un 24,3% el antecedente transfusional y el 10.5% consumo previo de drogas intravenosas. Menos frecuente fue la vía dérmica, 4%. La transmisión vertical se dio en 4 pacientes (1.2%).

Ocho pacientes (2,4%) reconocían un consumo activo de alcohol de más de 50g/d.

El 83,7% de los pacientes recibían tratamiento por primera vez. Los pacientes tratados previamente habían recibido en su gran mayoría interferón estándar en monoterapia.

Tabla 17: Variables cuantitativas basales, N 325

| VARIABLE | N | MEDIA | DE | RANGO |
|-------------------------|-----|---------|---------|----------------|
| Edad (años) | 325 | 47,21 | 10,83 | 16-70 |
| Peso (Kg.) | 265 | 72,22 | 12,93 | 48-123 |
| Carga viral (UI/mL) | 325 | 1666321 | 4308587 | 3.000-59000000 |
| Leucocitos (cél/μL) | 319 | 6463 | 1891 | 2900-17450 |
| Plaquetas (cél/μL) | 320 | 205286 | 60872 | 72000-498000 |
| Hemoglobina (g./dL) | 318 | 15,20 | 1,20 | 11,6-17,9 |
| AST (U/L) | 325 | 70 | 55 | 17-507 |
| ALT (U/L) | 325 | 110 | 85 | 19-620 |
| ALT 2ª semana | 279 | 70 | 45 | 15-271 |
| Cociente. ALT 0/2ªsem.. | 279 | 1,71 | 1,33 | 0,27-12,19 |
| Cociente AST/ALT | 325 | 0,68 | 0,24 | 0,29-2,62 |
| GGT (U/L) | 325 | 88 | 116 | 7-1446 |
| GGT 2ªsemana | 273 | 85 | 102 | 7-935 |
| Cociente. GGT 0/2ªsem. | 273 | 1,09 | 0,63 | 0,09-6,86 |
| BRt (U/L) | 312 | 0,86 | 0,39 | 0-4,5 |
| FA (U/L) | 267 | 144 | 70 | 39-800 |
| Creatinina (mg/dL) | 240 | 1,02 | 0,18 | 0,7-2 |
| Glucosa (mg/dL) | 215 | 102 | 21 | 64-235 |
| Colesterol (mg/dL) | 323 | 179 | 36 | 75-293 |
| TSH (UI/mL) | 258 | 1,80 | 1,24 | 0,03-8,66 |
| T4 (pg/mL) | 251 | 11,80 | 2,32 | 0,24-20 |
| Ferritina (ng/mL) | 151 | 271 | 257 | 6 -1180 |

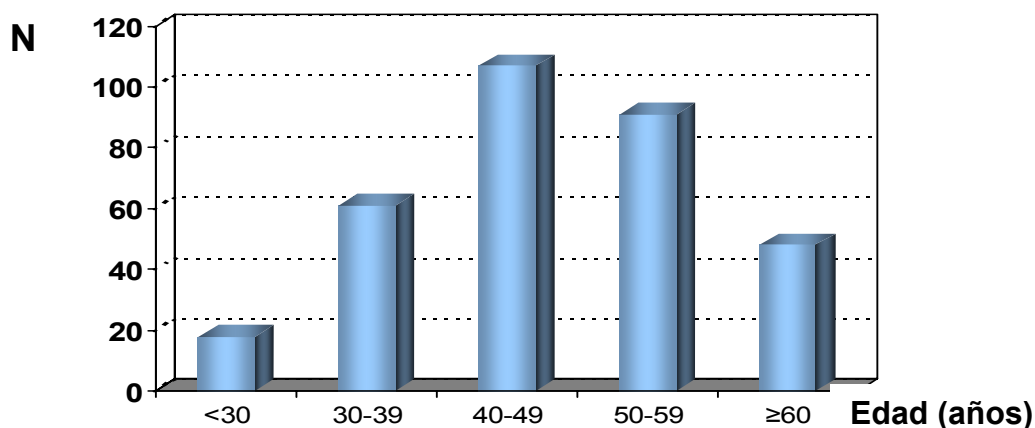
DE: desviación estándar, ALT: alanina-aminotransferasa, cociente. ALT 0/2ªsem.: cociente ALT basal/2ªsemana, AST: Aspartato-aminotransferasa, GGT: Gamma-glutamil transpeptidasa, cociente. GGT 0-2ªsem.: cociente GGT basal-2ª semana, FA: Fosfatasa alcalina, BRt: bilirrubina total.

Tabla 18: Variables cualitativas basales

| VARIABLE | N total | N | % |
|--|------------|-----|-------|
| Sexo, hombre | 325 | 210 | 64,6 |
| Vía de transmisión | | | |
| Desconocida | | 195 | 60 |
| Transfusional | 325 | 79 | 24,3 |
| ADVP | | 34 | 10.5 |
| Otros | | 17 | 5,2 |
| Consumo de alcohol (>50g/d) | 325 | 8 | 2,4% |
| Primer tratamiento (Naïve) | 325 | 272 | 83,7% |
| Datos virológicos | 325 | | |
| Genotipo 1 (1 no a no b, 1 no subtipificado) | | 23 | 7 |
| 1a | | 59 | 18,15 |
| 1b | | 243 | 74,8 |
| Crioglobulinas (+) | 319 | 33 | 10.3 |
| Carga viral alta (≥ 400.000 UI/mL) | 305 | 253 | 83 |
| Tratamiento | 325 | | |
| - Tipo de PEG-INF | | | |
| $\alpha 2b$ (PEGINTRON®, Schering-Plough) | | 249 | 76,6 |
| $\alpha 2a$ (PEGASYS®, RochePharma) | | 76 | 23,4 |
| - Reducción de dosis | 325 | | |
| PEG-INF | | 44 | 13.5 |
| Ribavirina | | 32 | 9,8 |

PEG-INF: interferón pegilado

Fig. 4: Edad de los pacientes de la muestra



El subtipo predominante fue el 1b con un 75.3%, un 21.3 % 1a, un 1.3% pacientes no 1a ni 1b y 1 indefinido un 2,1%.

Hemos incluido en el análisis los valores analíticos más significativos de la segunda semana. Los valores de ALT y GGT fueron de 70.06 UI/L y 85.02 UI/L respectivamente, y el cociente de ALT basal/2ª semana y de GGT basal/2ª semana fueron de 1,71 y 1,09 respectivamente.

El 10% presentaban crioglobulinemia.

A 251 pacientes se les realizó biopsia hepática. Cincuenta y cuatro pacientes (22,2%) presentaban depósito graso y en 21 (8,6%) había siderosis hepática, considerando como tal la positividad para la tinción de Perls. En fase de cirrosis se encontraban el 7,6%.

El 76.6% de los pacientes han sido tratados con PEG-INF alfa-2b.

La necesidad de reducción de dosis por efectos indeseables relacionados con en PEG-INF fue del 13.5% y del 9.8% con la RBV.

Los resultados del análisis de la respuesta al tratamiento se presentan en las Figuras 5 y 6. La tasa global de respuesta viral sostenida por intención

de tratar a pacientes con genotipo 1 fue del 35,6%. En los pacientes que toleraron el tratamiento según el protocolo la tasa de RVS fue del 42,15%.

Tabla 19: Variables cualitativas basales (II): datos histológicos

| VARIABLE | N total | N | % |
|---|---------|-----|------|
| - Cirrosis | 251 | 19 | 7.6 |
| - Esteatosis | 243 | 54 | 22.2 |
| - Siderosis | 243 | 21 | 8,6 |
| - Estadio histológico (Índice de Knodell) | | | |
| I. Necrosis periportal \pm en puentes >1 | 251 | 207 | 82,5 |
| II. Degeneración intralobular y necrosis focal >1 | | 97 | 38,6 |
| III. Inflamación portal >1 | | 207 | 82,5 |
| IV. Fibrosis (3-4) | | 120 | 47,8 |

Figura 5: Respuesta viral al tratamiento combinado por intención de tratar

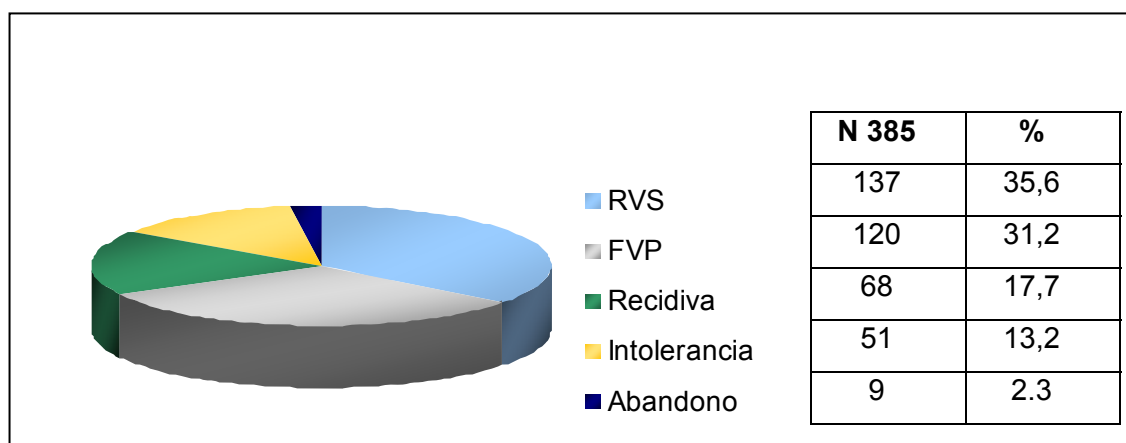
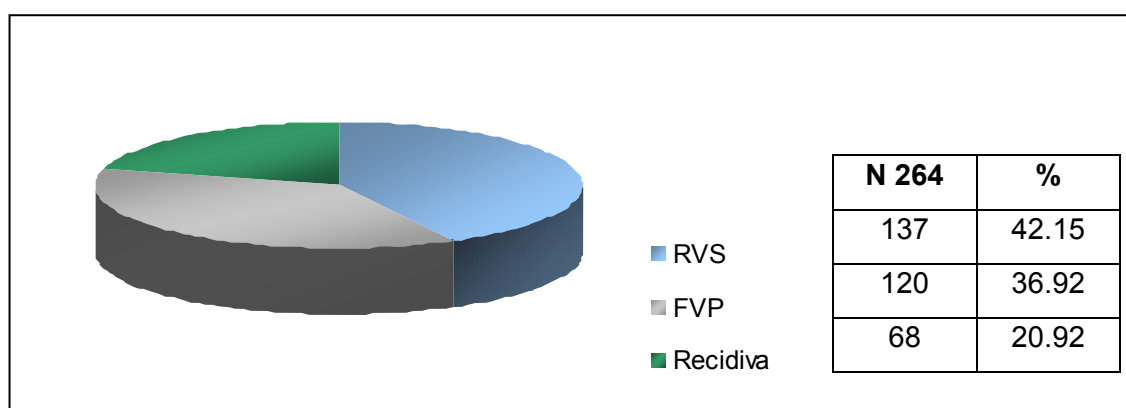


Figura 6: Respuesta en pacientes que completaron el tratamiento



2. FACTORES BASALES PREDICTIVOS DE RESPUESTA AL TRATAMIENTO COMBINADO CON PEG-INF Y RBV

Un total de 325 pacientes fueron incluidos para el análisis de los factores basales predictivos de respuesta global, realizando la comparación entre el grupo de pacientes con respuesta viral sostenida (RVS), 137 pacientes, y el de fracaso terapéutico 188 pacientes, incluidos los de fracaso viral primario (FVP), 120 pacientes, y los recidivantes, 68 pacientes. En un segundo paso se comparó el grupo de FVP (120 pacientes) con el de RVS (137 pacientes) para determinar los factores basales predictivos de fracaso primario.

2.1. IDENTIFICACIÓN DE CRITERIOS BASALES PREDICTIVOS DE RESPUESTA VIRAL SOSTENIDA

2.1.1. Análisis univariante

Los resultados del análisis univariante se encuentran reflejados en las Tablas 20 y 21. Los parámetros que tuvieron una pérdida mayor del 10%, pero en los que existieron resultados significativos, se han recogido en la Tabla 22 y los datos reseñables de la segunda semana de tratamiento se han recogido en la Tabla 23.

- VARIABLES DEMOGRÁFICAS Y EPIDEMIOLÓGICAS

La media de **edad** de los pacientes con RVS fue significativamente menor que la de los pacientes con fracaso ($44,88 \pm 11$ años vs. $48,91 \pm 10$ años, $p = 0,001$).

Tabla 20: Análisis de las variables cualitativas basales en la respuesta al tratamiento combinado con PEG-INF más RBV N= 325 (I)

| Variable | | RVS | Fracaso | p | |
|--------------------|--------------|-----|---------|------|-------|
| Sexo | N | 86 | 124 | 0,55 | |
| | Hombre (210) | % | 41,0% | | 59,0% |
| | N | 51 | 64 | | |
| | Mujer (115) | % | 44.3% | | 55.7% |
| Retratamiento | N | 116 | 156 | 0,68 | |
| | No | | | | |
| | N | 21 | 32 | | |
| | Si | | | | |
| Tipo de PEG-INF | N | 31 | 45 | 0,78 | |
| | α2a | % | 40.8% | | 59.2% |
| | N | 106 | 143 | | |
| | α2b | % | 42.6% | | 57.4% |
| Reducción de dosis | | | | | |
| | - PEG-INF | | | | |
| | No | N | 117 | 164 | 0,63 |
| | Sí | N | 20 | 24 | |
| | - RBV | | | | |
| | No | N | 122 | 171 | 0,57 |
| | Sí | N | 15 | 17 | |

RVS respuesta viral sostenida, PEG-INF: interferón pegilado, RBV: Ribavirina

Tabla 20: Análisis de las variables cualitativas basales en la respuesta al tratamiento combinado con PEG-INF más RBV. N= 325 (II)

| Variable | | RVS | Fracaso | p |
|----------------------------|--------|-------------|--------------|------------------|
| Genotipo | | | | |
| 1b | N % | 91 37.4% | 152 62.6% | 0,003 |
| No 1b (1, 1a) | N % | 46 56.1% | 36 43.9% | |
| Carga viral | | | | |
| Baja (≤ 400000) | N % | 37 71.2% | 15 28.8% | <0.001 |
| Alta (>400000) | N % | 90 35,6% | 163 64,4% | |
| Estadio de fibrosis | | | | |
| 0-1 | N % | 67 51.1% | 64 48.9% | 0,01 |
| 3-4 | N % | 42 35% | 78 65% | |
| Esteatosis | | | | |
| No | N | 89 | 100 | 0,07 |
| Sí | N | 18 | 36 | |
| Siderosis | | | | |
| No | N | 98 | 124 | 0,91 |
| Sí | N | 9 | 12 | |

RVS: respuesta viral sostenida

Tabla 21: Análisis de las variables cuantitativas basales en la respuesta al tratamiento combinado con PEG-INF más RBV. N= 325

| Variables | RVS N= 137 | | Fracaso N= 188 | | p |
|-------------------------------------|------------|-----------|----------------|-----------|------------------|
| | Media | DE | Media | DE | |
| Edad, años | 44,88 | 11,15 | 48,91 | 10,29 | 0,001 |
| Leucocitos / μ L (cél/ μ L) | 6534 | 1979 | 6411 | 1828 | 0,63 |
| Neutrófilos (cél/ μ L) | 3524 | 1480 | 3380 | 1300 | 0,60 |
| Hemoglobina (g/L) | 15,11 | 1,21 | 15,26 | 1,20 | 0,45 |
| Plaquetas (cél/ μ L) | 217613 | 64166 | 196303 | 56861 | 0,001 |
| Bilirrubina total (U/L) | 0,82 | 0,34 | 0,90 | 0,42 | 0,05 |
| AST*(U/L) | 51 | 36-78 | 53 | 40-83 | 0,86 |
| ALT*(U/L) | 86 | 60-134 | 78 | 58-122 | 0,47 |
| Cociente AST/ALT | 0,63 | 0,22 | 0,73 | 0,25 | <0,001 |
| GGT* (U/L) | 37 | 25-69 | 71,50 | 41-131 | <0,001 |
| FA (U/L) | 147 | 64 | 143 | 74 | 0,53 |
| Colesterol (mg/dL) | 189 | 37 | 172 | 32 | <0,001 |
| Glucosa (mg/dL) | 101 | 23 | 104 | 20 | 0,056 |
| Coc. ALT 0/2ªsem.* | 1,63 | 1,23-2,28 | 1,20 | 0,91-1,57 | <0,001 |
| Coc. GGT 0/2ªsem.* | 1,00 | 0,80-1,38 | 0,94 | 0,76-1,15 | 0,36 |

DE: desviación estándar, PEG-INF: interferón pegilado, RBV: Ribavirina, Coc. ALT 0/2ªsem.: cociente ALT basal/2ªsemana, Coc. GGT 0-2ªsem.: cociente GGT basal/2ªsemana.

*Datos expresados en mediana y rango intercuartil

Tabla 22: Análisis de las variables cualitativas basales en la respuesta al tratamiento combinado con PEG-INF más RBV (pérdida mayor del 10%)

| Variables | RVS | | | Fracaso | | | p |
|-------------------|-----|-------|--------|---------|-------|--------|------|
| | N | Media | DE | N | Media | DE | |
| TSH (U/mL) | 108 | 1,69 | 1,01 | 150 | 1,88 | 1,38 | 0,28 |
| T4 (pg/mL) | 104 | 12,05 | 2,17 | 147 | 11,62 | 2,40 | 0,12 |
| Ferritina*(ng/mL) | 66 | 180 | 81-278 | 85 | 223 | 92-443 | 0,28 |

RVS respuesta viral sostenida, DE: desviación estándar, PEG-INF: interferón pegilado, RBV: Ribavirina, TSH: hormona estimulante tiroidea, T4: Levo-tiroxina

*Datos expresados en mediana y rango intercuartil

Tabla 23: Análisis de las variables cualitativas en la respuesta al tratamiento combinado con PEG-INF más RBV en la 2ª semana

| Variables | RVS | | | Fracaso | | | p |
|-----------------------------|-----|--------|-------|---------|--------|--------|--------------|
| | N | Media | DE | N | Media | DE | |
| ALT 2 ^{as} *(U/L) | 95 | 46 | 31-68 | 89 | 73 | 53-114 | 0,04 |
| GGT 2 ^{as} *(U/L) | 93 | 35 | 23-53 | 88 | 80 | 46-158 | 0,001 |
| Col 2 ^{as} (mg/dL) | 66 | 171,53 | 30,66 | 76 | 155,34 | 30,97 | 0,003 |
| TSH 2sem.(U/mL) | 85 | 1,90 | 1,48 | 76 | 2,09 | 1,37 | 0,10 |

RVS respuesta viral sostenida, DE: desviación estándar, PEG-INF: interferón pegilado, RBV: Ribavirina, 2^{as}: 2ªsemana, Col: colesterol, TSH: hormona estimulante tiroidea.

*Datos expresados en mediana y rango intercuartil

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en relación con el sexo (Fig. 7) ni en relación con retratamiento.

Sólo ocho pacientes (2,5%) tenían un consumo significativo de alcohol (>50g/d) por lo que este dato no es valorable estadísticamente.

- VARIABLES DEPENDIENTES DEL VIRUS

Los pacientes con **genotipo 1b** presentaron una peor respuesta que los pacientes no 1b (1 no a no b, 1a), con una tasa RVS del 37.4% frente al 56.1% respectivamente (p 0,003), Fig. 8.

La **carga viral** basal alta (>400000 U/mL) estuvo asociada con una peor respuesta, 35.6% de RVS, que con baja carga, 71.2% de RVS (p<0.001).

La carga viral y el genotipo 1b han sido los factores predictivos con mayor potencia estadística.

- VARIABLES HEMATOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS

No se encontraron diferencias significativas entre los valores medios basales de leucocitos, neutrófilos, hemoglobina, AST, ALT, FA, glucosa, ferritina, TSH y T4.

Los pacientes con RVS presentan un mayor número basal de **Plaquetas** que en los pacientes con fracaso ($217.613 \pm 64166/\mu\text{L}$ vs. $196303 \pm 56861/\mu\text{L}$, p=0,001), Fig. 9.

Las cifras de **bilirrubina** total basales fueron menores en los pacientes con RVS que en el fracaso ($0,82 \pm 0,34$ vs. $0,90 \pm 0,42$, p=0,05), Fig. 10.

Las cifras basales de **GGT** fueron también menores en los pacientes con RVS que en el fracaso (mediana 37, rango 25-69 vs. mediana 71.50, rango 41.25-131.25, $p < 0,001$), Fig. 11.

Figura 7: Respuesta según sexo

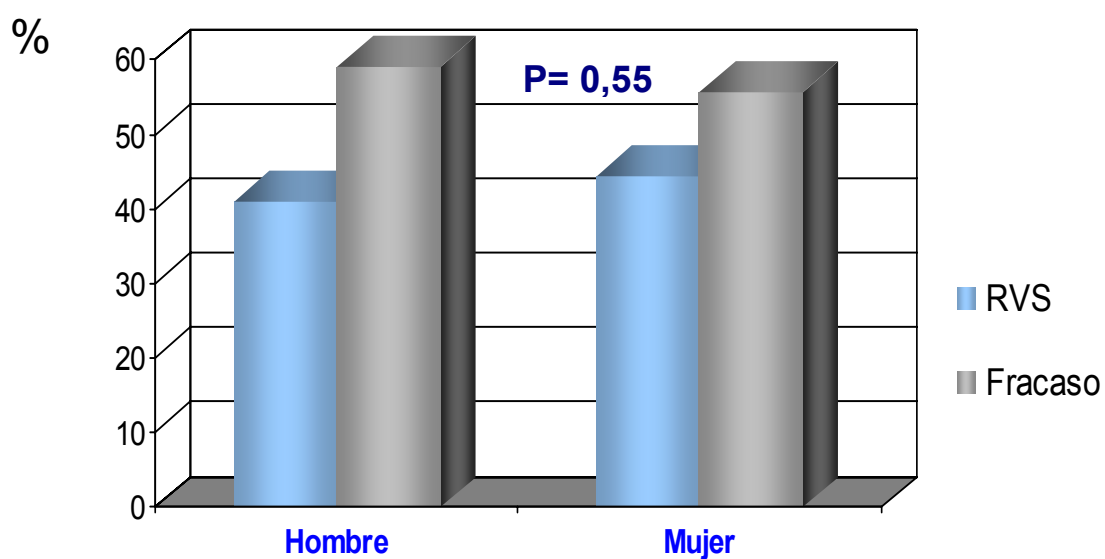


Figura 8: Respuesta según el subtipo viral

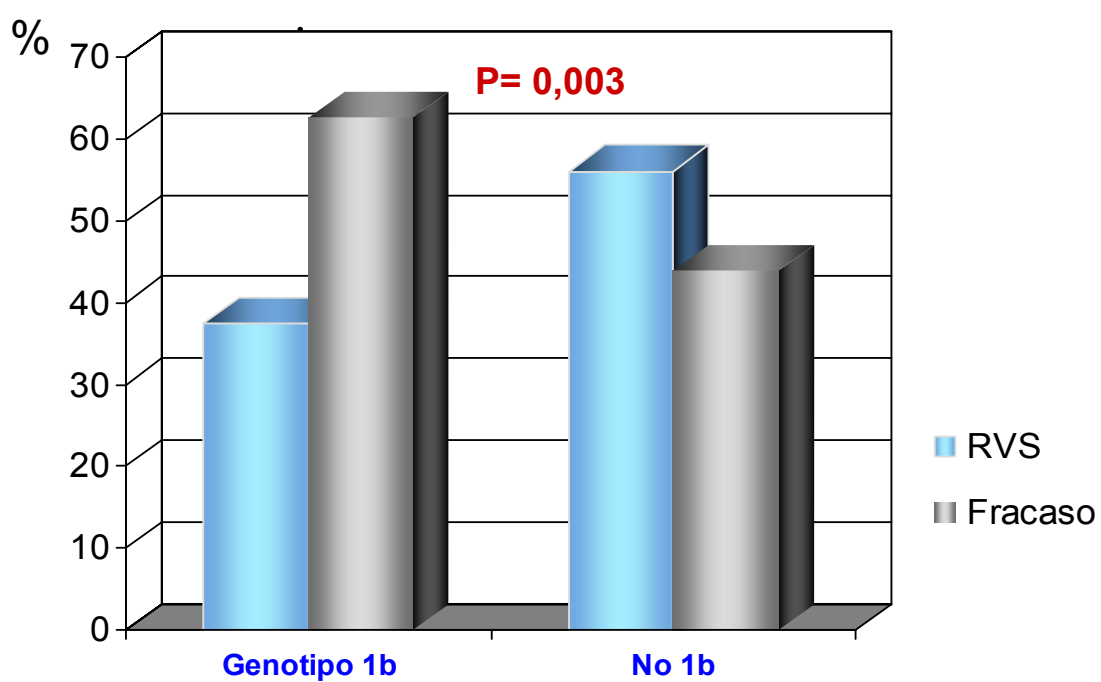


Figura 9: Niveles basales de **plaquetas**. RVS: respuesta viral sostenida, FT: fracaso terapéutico.

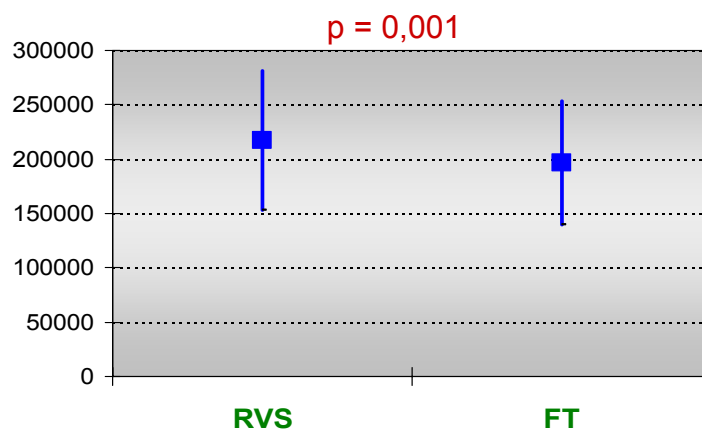


Figura 10: Niveles basales de **bilirrubina total**. RVS: respuesta viral sostenida, FT: fracaso terapéutico.

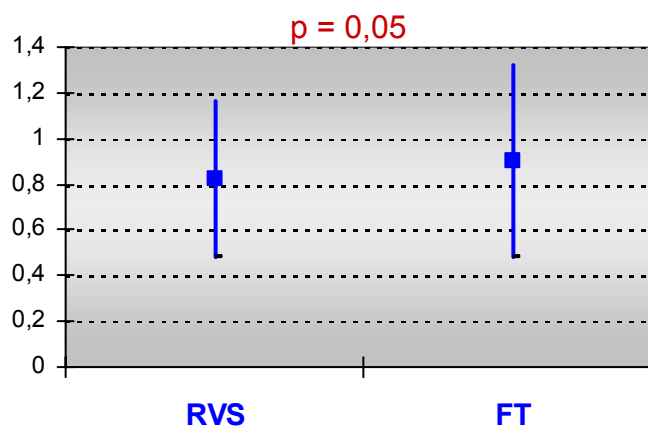
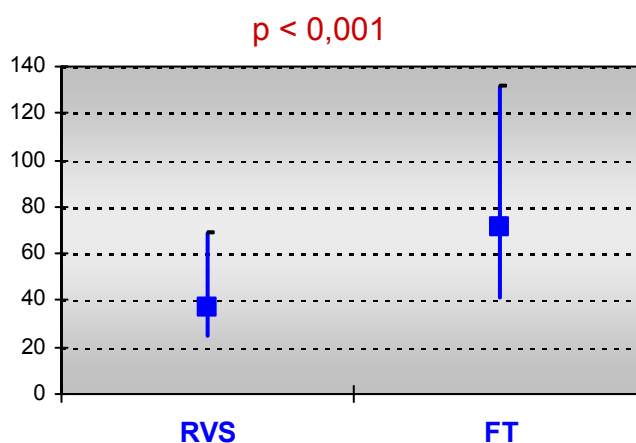


Figura 11: Niveles basales de **GGT**. RVS: respuesta viral sostenida, FT: fracaso terapéutico



El **cociente AST/ALT** basal fue menor y las cifras de **colesterol** mayores en los pacientes con RVS, Figs. 12 y 13.

Analizando los niveles de **Ferritina** basal de los pacientes a los que se les ha realizado (68 pacientes en ambos grupos), no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas entre el fracaso y la RVS (mediana 223, rango 92-443 vs. mediana 180, rango 81-278, respectivamente, $p=0,28$).

La velocidad de descenso de las cifras de ALT, medida por el cociente ALT basal/ALT 2ª semana, ha sido significativamente mayor en los pacientes con RVS que en aquéllos con fracaso terapéutico, Tabla 21.

- VARIABLES HISTOLÓGICAS

La presencia de un **estadio de fibrosis** más avanzado se asoció con una menor tasa de respuesta viral sostenida, Fig.14.

Aunque en los pacientes con **depósito graso** en hígado la tasa de RVS fue menor que en ausencia de la misma las diferencias no alcanzaron significación estadística (16,8% vs. 26,5%, $p=0,07$).

No se encontraron diferencias en la respuesta en función de la presencia de hierro en tejido hepático (8,2% en la RVS vs. 8,8% en el fracaso, $p=0,91$).

- VARIABLES PENDIENTES DEL TRATAMIENTO

No se han encontrado diferencias según el tipo de PEG-INF, ni en las reducciones de dosis, cuando fue preciso hacerlo, tanto de PEG-INF como de RBV.

Figura 12: Cociente **AST/ALT** basal. RVS: respuesta viral sostenida, FT: fracaso terapéutico.

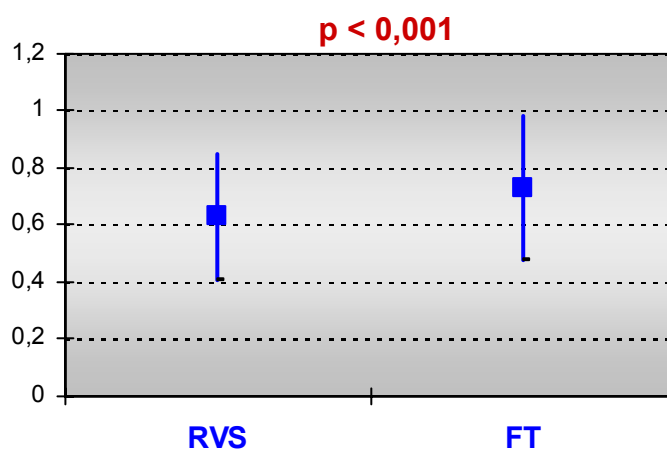


Figura 13: Niveles basales de **Colesterol**. RVS: respuesta viral sostenida, FT: fracaso terapéutico

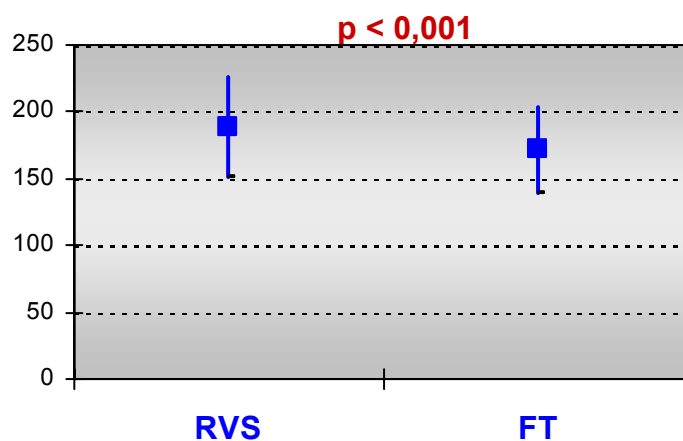
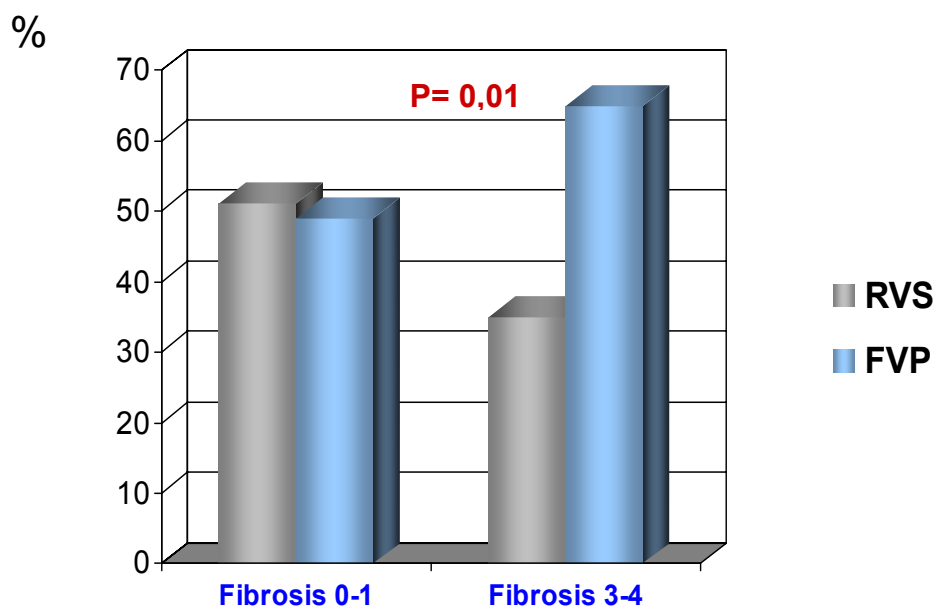


Figura 14: Respuesta según el **estadio de fibrosis**



A partir de las variables independientes cuantitativas descritas previamente se construyeron las curvas de rendimiento diagnóstico (COR), con los puntos de corte con el mayor poder discriminativo (máxima sensibilidad y máxima especificidad), con el fin de conocer el valor clínico más predictivo, Figuras 15-21. De las variables analizadas, los niveles basales de **GGT**, **cociente ALT basal/ALT 2ª semana**, **cociente AST/ALT**, **carga viral**, y la **ALT 2ª semana**, son las variables con mayor poder predictivo con áreas bajo la curva de 0,70, 0,70, 0,66, 0,62 y 0,63 respectivamente, con los rangos intercuartiles descritos en la Tabla 24. Siguen el colesterol basal y la edad del paciente.

Figura 15: Curva COR de los factores de respuesta basales. Análisis univariante: **GGT basal**

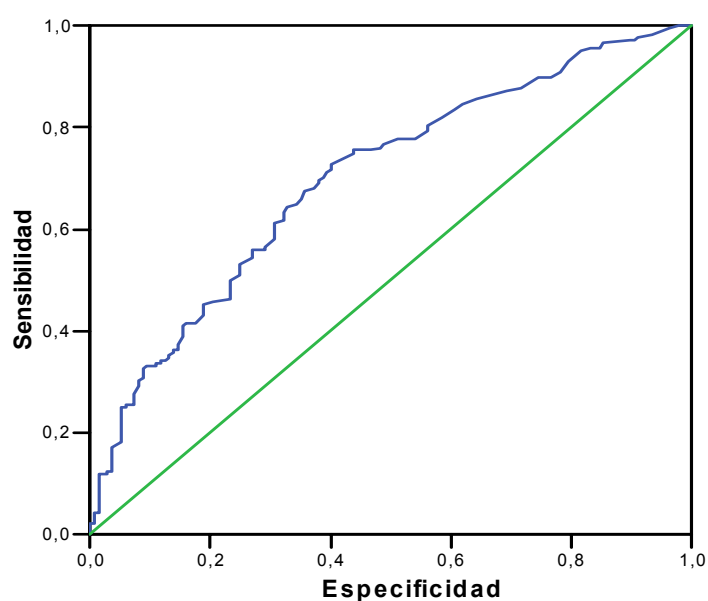


Figura 16: Curva COR de los factores de respuesta basales. Análisis univariante: **Cociente ALT basal/ 2 semana**

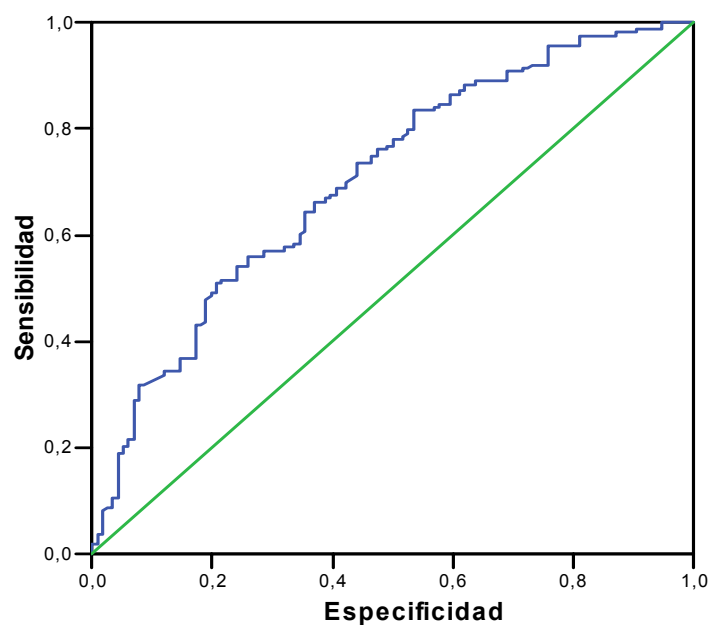


Figura 17: Curva COR de los factores de respuesta basales. Análisis univariante: **Cociente AST/ALT**

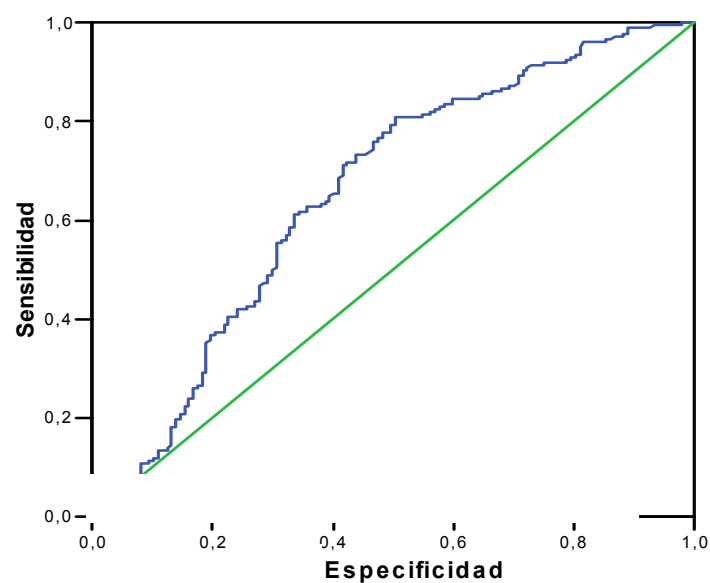


Figura 18: Curva COR de los factores de respuesta basales. Análisis univariante: **Carga viral**

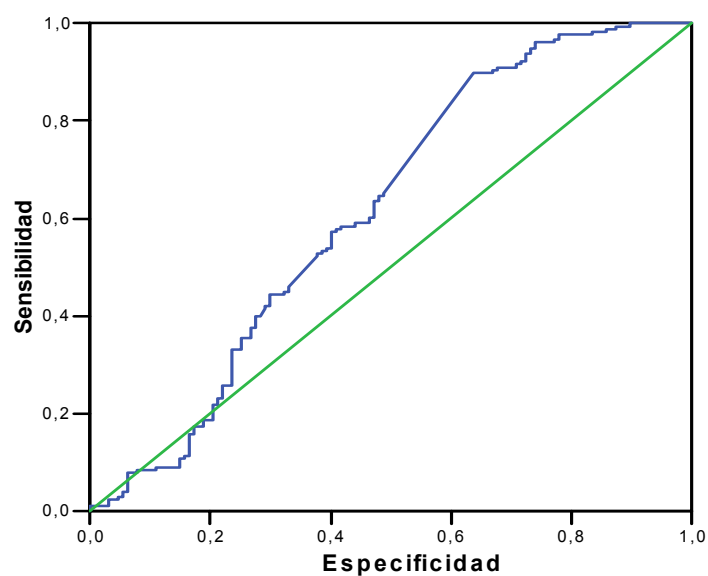


Figura 19: Curva COR de los factores de respuesta basales. Análisis univariante: **ALT 2 semana**

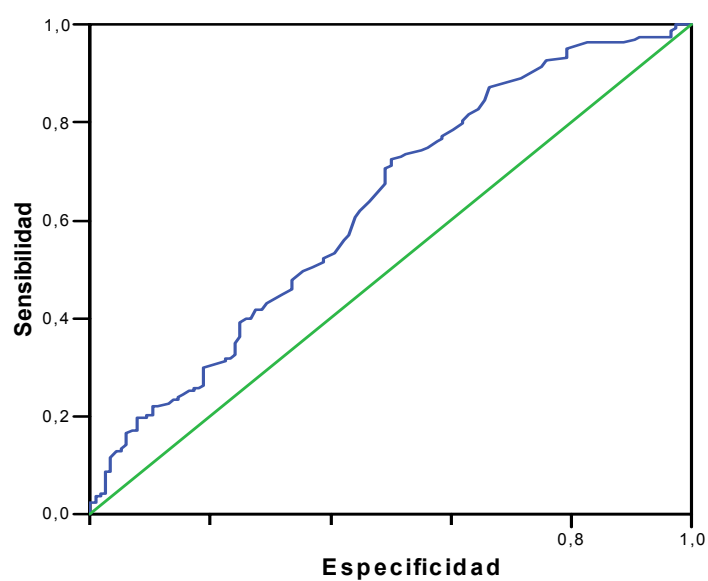


Figura 20: Curva COR de los factores de respuesta basales. Análisis univariante: **Colesterol**

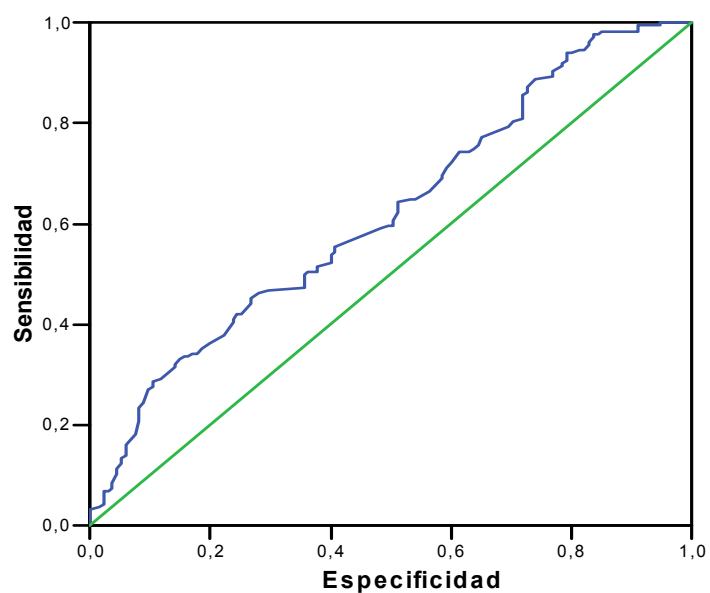


Figura 21: Curva COR de los factores de respuesta basales. Análisis univariante: **Edad**

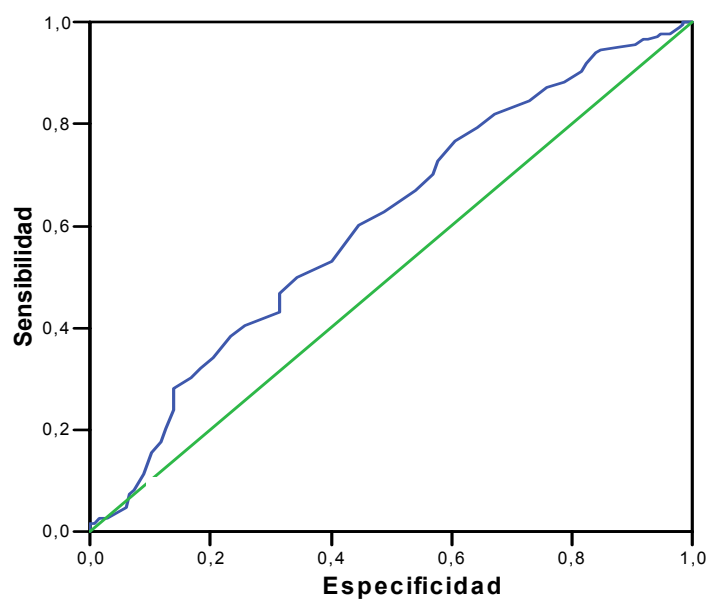


Tabla 24: Área bajo la curva del análisis univariante.

| Variable | Área | ES | p | Intervalo de confianza al 95% | |
|-------------------|------|-------|--------------|-------------------------------|-----------------|
| | | | | Límite inferior | Límite superior |
| GGT | 0,70 | 0,029 | 0,000 | 0,64 | 0,76 |
| Cociente ALT 0/2s | 0,70 | 0,031 | 0,000 | 0,64 | 0,77 |
| Cociente AST/ALT | 0,66 | 0,032 | 0,000 | 0,60 | 0,72 |
| Carga viral | 0,62 | 0,034 | 0,001 | 0,55 | 0,68 |
| ALT 2ª semana | 0,63 | 0,034 | 0,000 | 0,56 | 0,69 |
| Colesterol | 0,62 | 0,031 | 0,000 | 0,56 | 0,68 |
| Edad | 0,61 | 0,032 | 0,001 | 0,54 | 0,67 |

ES: error estándar, Cociente ALT 0/2s: Cociente ALT basal/2ª semana

2.1.2. Análisis multivariante

El análisis multivariante se ha realizado a partir de los valores obtenidos en el análisis univariante. En el modelo se incluyen seis factores basales predictivos de respuesta independientes; **edad, carga viral, genotipo 1b, plaquetas, GGT y cociente ALT 0/2 semana** (Tabla 25).

Este modelo de regresión logística tiene una especificidad del 77,8 % y sensibilidad del 74,2%, con la curva de rendimiento COR de la Fig.22.

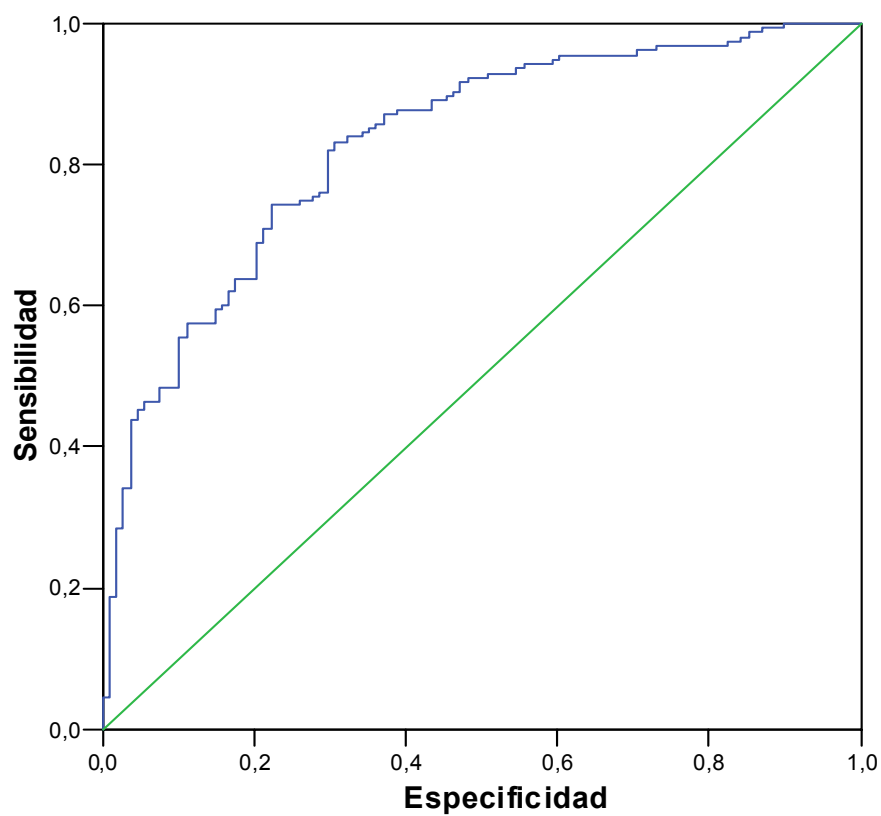
Tabla 25: Modelo de regresión logística para predicción de respuesta al tratamiento

| Variables dicotómicas | Beta | E.E | p | OR | Intervalo de confianza al 95% | |
|------------------------|--------|-------|--------------|------|-------------------------------|-----------------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| Carga viral (400000) | 0,87 | 0,40 | 0,028 | 2,38 | 1,10 | 5,18 |
| GGT (40) | 0,02 | 0,004 | 0,00 | 1,02 | 1,01 | 1,02 |
| Edad (45) | 0,04 | 0,02 | 0,01 | 1,04 | 1,01 | 1,07 |
| Genotipo 1b (Sí/No) | 0,70 | 0,35 | 0,04 | 2,00 | 1,02 | 3,94 |
| Plaquetas (150000) | -0,004 | 0,003 | 0,08 | 1,00 | 0,99 | 1,00 |
| Cociente ALT 0/2ª sem* | -0,73 | 0,19 | 0,00 | 0,48 | 0,33 | 0,70 |
| Constante | -1,52 | 1,05 | 0,15 | 0,22 | | |

EE: error estándar, OR: odds ratio, ALT 0/2ªsem: ALT basal/2ª semana.

*Variable continua

Figura 22: Curva COR del modelo multivariante



| Área | ES | p | Intervalo de confianza al 95% | |
|------|-------|--------------|-------------------------------|-----------------|
| | | | Límite inferior | Límite superior |
| 0,83 | 0,025 | 0,000 | 0,78 | 0,88 |

ES: error estándar

2.2. FACTORES PREDICTIVOS DE FRACASO PRIMARIO

Analizamos un total de 257 pacientes con genotipo 1 para determinar los **factores basales predictivos de fracaso primario** mediante la compararon del grupo de pacientes con RVS (137 pacientes) y el de fracaso viral primario (120 pacientes).

2.2.1. Análisis univariante

Los resultados del análisis univariante se encuentran reflejados en las Tablas 26 (I) y (II) y 27. Los parámetros que tuvieron una pérdida mayor del 10%, pero en los que existieron resultados significativos, se han recogido en la Tabla 28.

Tabla 26: Análisis de las variables cualitativas basales en la respuesta al tratamiento combinado con PEG-INF más RBV N= 257 (I)

| Variable | | RVS (137) | FVP (120) | p | | |
|--------------------|--------------|-----------|-----------|------|-----|------|
| Sexo | N | 86 | 77 | 0,82 | | |
| | Hombre | % | 52,8% | | | |
| | Mujer | N | 43 | | | |
| | % | 54,3% | 45,7% | | | |
| Retratamiento | N | 116 | 96 | 0,32 | | |
| | No | % | 54,7% | | | |
| | Si | N | 24 | | | |
| | % | 46,7% | 53,3% | | | |
| Tipo de PEG-INF* | N | 31 | 29 | 0,77 | | |
| | α-2a | % | 51,7% | | | |
| | α-2b | N | 91 | | | |
| | % | 53,8% | 46,2% | | | |
| Reducción de dosis | - PEG-INF | No | N | 117 | 106 | 0,49 |
| | | Sí | N | 20 | 14 | |
| | - Ribavirina | No | N | 122 | 112 | 0,23 |
| | | Sí | N | 15 | 8 | |

FVP: fracaso viral primario, RVS respuesta viral sostenida, PEG-INF: interferón pegilado.

Tabla 26: Análisis de las variables cualitativas basales en la respuesta al tratamiento combinado con PEG-INF más RBV N= 257 (II)

| Variable | | RVS (137) | FVP (120) | p |
|----------------------------|--------|-------------|--------------|------------------|
| Genotipo | | | | |
| 1b | N % | 91 47,6% | 100 52,4% | 0,002 |
| No 1b (1, 1a) | N % | 46 69,7% | 20 30,3% | |
| Carga viral | | | | |
| Baja (≤ 400000) | N % | 37 84,1% | 7 15,9% | <0,001 |
| Alta (> 400000) | N % | 90 45,2% | 109 54,8% | |
| Estadio de fibrosis | | | | |
| 0-1 | N % | 67 65,7% | 35 34,3% | 0,003 |
| 3-4 | N % | 42 44,7% | 52 55,3% | |
| Esteatosis | | | | |
| No | N | 89 | 59 | 0,047 |
| Sí | N | 18 | 24 | |
| Siderosis | | | | |
| No | N | 98 | 74 | 0,57 |
| Sí | N | 9 | 9 | |

FVP: fracaso viral primario, RVS respuesta viral sostenida

Tabla 27: Análisis de las variables cuantitativas basales en la respuesta al tratamiento combinado con PEG-INF más RBV. N= 257

| Variables | RVS N= 137 | | FVP N= 120 | | p |
|-------------------------------------|------------|-----------|------------|-----------|------------------|
| | Media | DE | Media | DE | |
| Edad, años | 44,88 | 11,15 | 49,56 | 10,28 | 0,001 |
| Leucocitos / μ L (cél/ μ L) | 6534 | 1978 | 6305 | 1807 | 0,44 |
| Neutrófilos (cél/ μ L) | 3524 | 1480 | 3258 | 1260 | 0,30 |
| Hemoglobina (g/L) | 15,11 | 1,21 | 15,23 | 1,19 | 0,57 |
| Plaquetas (cél/ μ L) | 217613 | 64166 | 188992 | 56029 | <0,001 |
| Bilirrubina total (U/L) | 0,82 | 0,34 | 0,93 | 0,48 | 0,04 |
| AST*(U/L) | 51 | 36-78 | 58 | 44-98 | 0,08 |
| ALT*(U/L) | 86 | 60 | 81 | 61-144 | 0,75 |
| Cociente AST/ALT | 0,63 | 0,22 | 0,74 | 0,26 | <0,001 |
| GGT* (U/L) | 37 | 25-69 | 79 | 53-148 | <0,001 |
| FA (U/L) | 147 | 64 | 136 | 54 | 0,23 |
| Colesterol (mg/dL) | 189 | 37 | 167 | 34 | <0,001 |
| Glucosa (mg/dL) | 101 | 23 | 104 | 20 | 0,21 |
| Cociente ALT 0/2 ^{as} * | 1,63 | 1,23-2,28 | 1,15 | 0,90-1,58 | <0,001 |
| Cociente GGT 0/2 ^{as} * | 1,00 | 0,80-1,38 | 0,97 | 0,78-1,17 | 0,36 |

DE: desviación estándar, PEG-INF: interferón pegilado, FVP: fracaso viral primario, RVS respuesta viral sostenida, ALT 0/2^{as}: ALT basal/2^a semana, GGT 0/2^{as}: GGT basal/2^a semana, FA: fosfatasa alcalina.

*Datos expresados en mediana y rango intercuartil

Tabla 28: Análisis de las variables cualitativas basales en la respuesta al tratamiento combinado con PEG-INF más RBV (pérdida mayor del 10%)

| Variables | RVS | | | FVP | | | p |
|--------------------|-----|-------|--------|-----|-------|--------|-------------|
| | N | Media | DE | N | Media | DE | |
| TSH (U/mL) | 108 | 1,69 | 1,01 | 95 | 2,12 | 1,55 | 0,02 |
| T4 (pg/mL) | 104 | 12,05 | 2,17 | 94 | 11,34 | 2,46 | 0,03 |
| Ferritina* (ng/mL) | 66 | 180 | 81-278 | 58 | 226 | 92-454 | 0,07 |

DE: desviación estándar, PEG-INF: interferón pegilado, FVP: fracaso viral primario, RVS respuesta viral sostenida

*Datos expresados en mediana y rango intercuartil

Se obtuvieron igualmente diferencias significativas en cuanto a edad ($p=0,001$), subtipo ($p=0,002$), estadio de fibrosis ($p=0,003$), carga viral ($p<0,001$), plaquetas ($p<0,001$), bilirrubina ($p=0,04$), GGT ($p<0,001$), colesterol ($p<0,001$), cociente AST/ALT ($p<0,001$), cociente ALT basal/2ª semana ($p<0,001$) y depósito graso en hígado ($p=0,047$)

A partir de las variables independientes cuantitativas descritas previamente se construyeron las curvas de rendimiento diagnóstico (COR), con los puntos de corte con el mayor poder discriminativo (máxima sensibilidad y máxima especificidad) con el fin de conocer el valor más predictivo, Figuras 23-31. De las variables analizadas, los niveles basales de **GGT**, el **cociente ALT basal/ALT 2ª semana**, la **ALT 2ª semana**, el **cociente AST/ALT**, **colesterol**, **carga viral**, **plaquetas**, **edad** y niveles de **TSH**, son las variables con el mayor poder predictivo con áreas bajo la curva de 0,76, 0,73, 0,69, 0,67, 0,66, 0,65, 0,64, 0,62 y 0,60 respectivamente, con los rangos intercuartiles descritos en la Tabla 29.

Figura 23: Curvas COR de los factores de respuesta basales. Análisis univariante. **GGT basal**

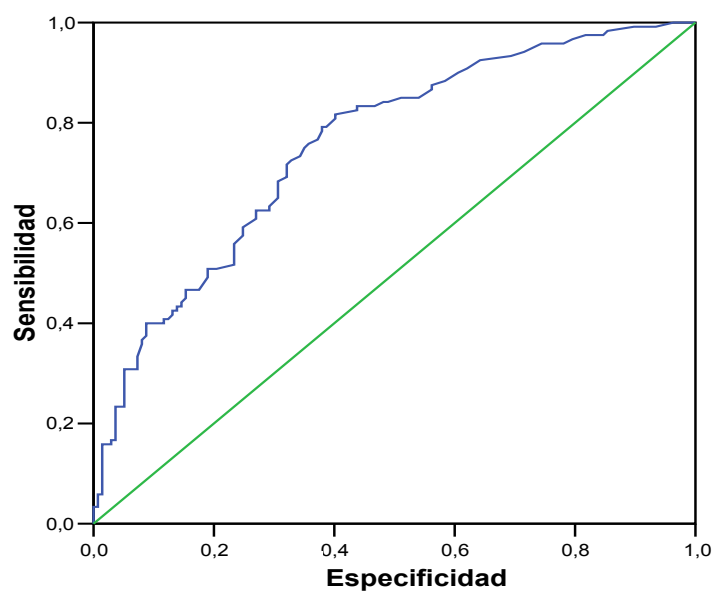


Figura 24: Curvas COR de los factores de respuesta basales. Análisis univariante. **Cociente ALT basal/2ª semana**

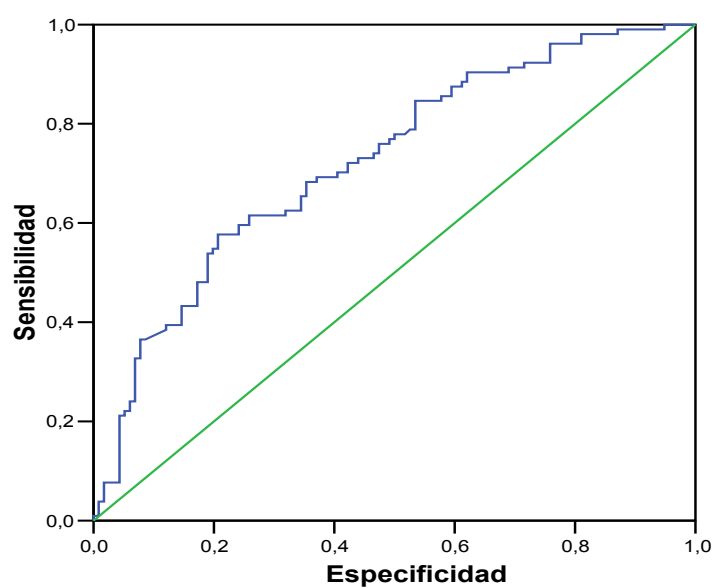


Figura 25: Curvas COR de los factores de respuesta basales. Análisis univariante. **ALT 2ª semana**

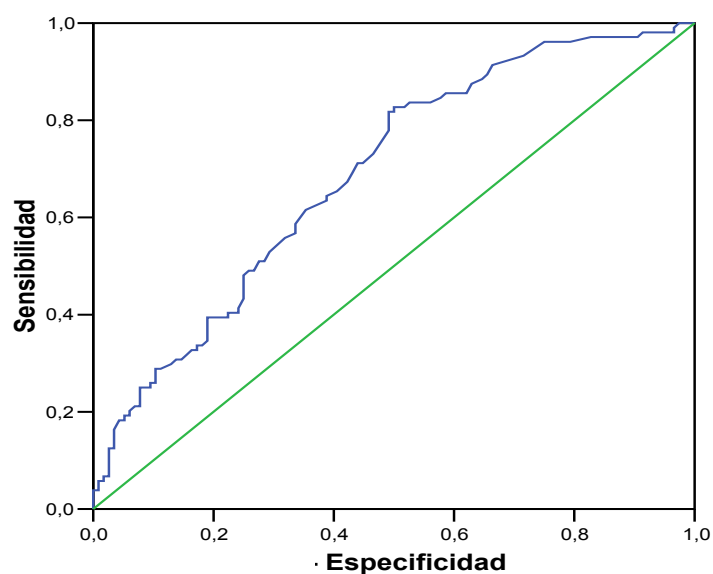


Figura 26: Curvas COR de los factores de respuesta basales. Análisis univariante. **Cociente AST/ALT**

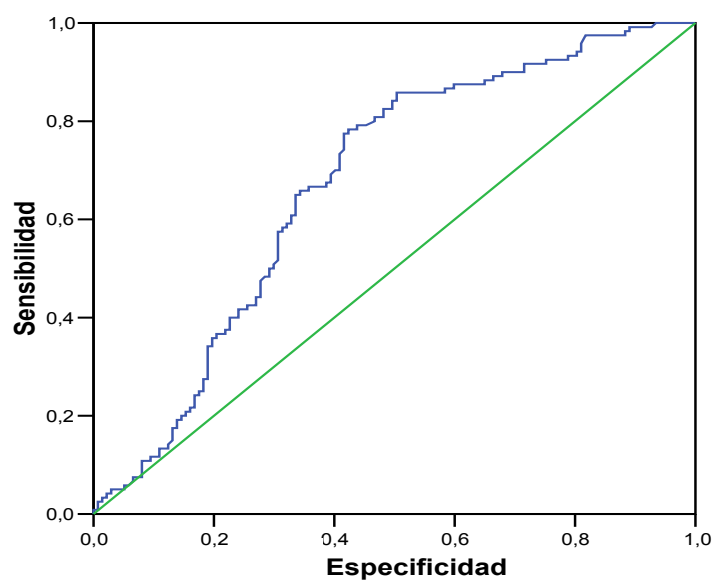


Figura 27: Curvas COR de los factores de respuesta basales. Análisis univariante. **Colesterol basal**

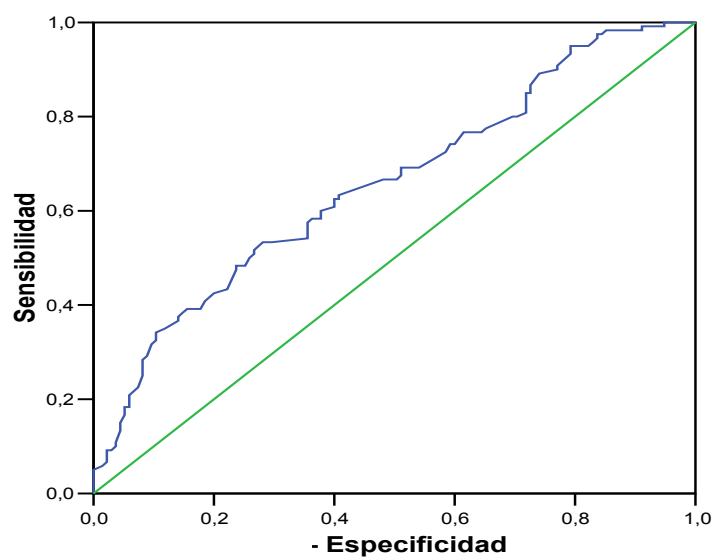


Figura 28: Curvas COR de los factores de respuesta basales. Análisis univariante. **Carga viral**

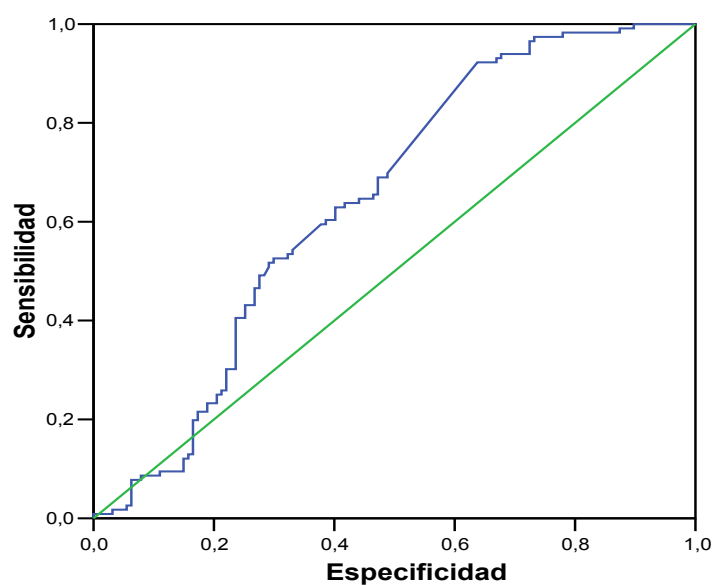


Figura 29: Curvas COR de los factores de respuesta basales. Análisis univariante. **Plaquetas**

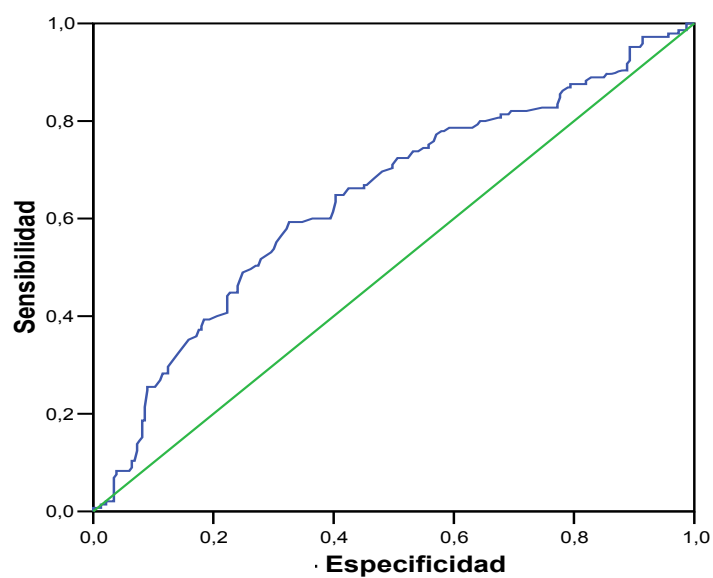


Figura 30: Curvas COR de los factores de respuesta basales. Análisis univariante. **Edad**

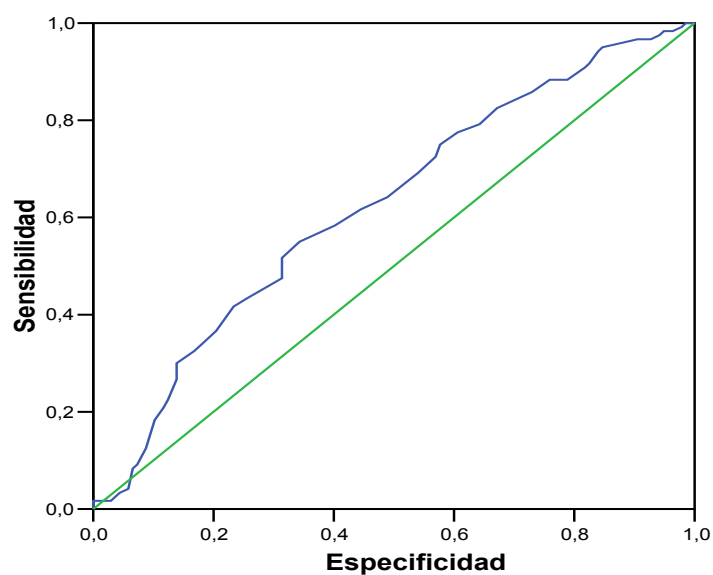


Figura 31: Curvas COR de los factores de respuesta basales. Análisis univariante. **TSH basal**

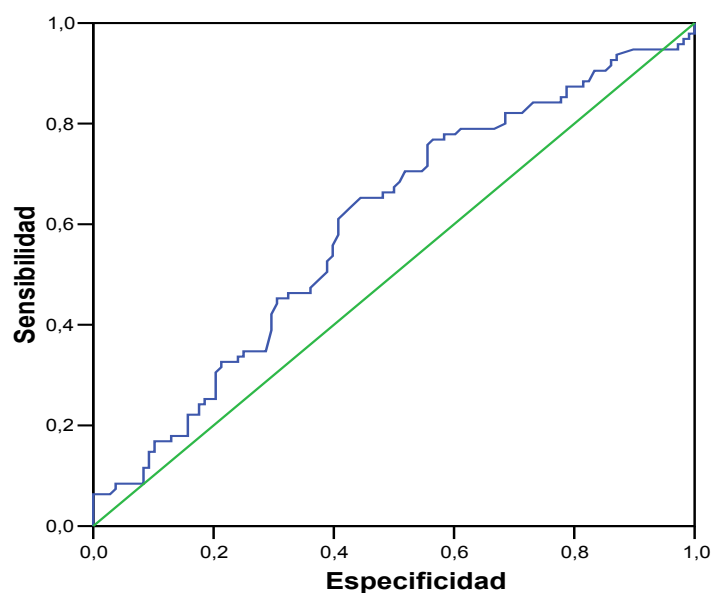


Tabla 29: Área bajo la curva del análisis univariante.

| Variable | Área | ES | p | Intervalo de confianza al 95% | |
|----------------------------|------|------|--------------|-------------------------------|-----------------|
| | | | | Límite inferior | Límite superior |
| GGT | 0,76 | 0,03 | 0,000 | 0,70 | 0,81 |
| Coc. ALT 0/2 ^{as} | 0,73 | 0,03 | 0,000 | 0,66 | 0,79 |
| ALT 2 ^a semana | 0,69 | 0,04 | 0,000 | 0,62 | 0,56 |
| Cociente AST/ALT | 0,67 | 0,03 | 0,000 | 0,61 | 0,74 |
| Colesterol | 0,66 | 0,03 | 0,000 | 0,59 | 0,72 |
| Carga viral | 0,65 | 0,04 | 0,000 | 0,58 | 0,72 |
| Plaquetas | 0,64 | 0,03 | 0,000 | 0,58 | 0,70 |
| Edad | 0,62 | 0,04 | 0,001 | 0,56 | 0,69 |
| TSH | 0,60 | 0,04 | 0,020 | 0,52 | 0,68 |

Coc. ALT 0/2^{as}: cociente ALT basal/ 2^a semana

2.2.1. Análisis multivariante

El análisis multivariante se ha realizado a partir de los valores obtenidos en el análisis univariante.

En el modelo se incluyen ocho factores basales independientes predictivos de fracaso primario, se encuentran reflejados en la Tabla 13, y fueron **carga viral, genotipo 1b, plaquetas, colesterol, GGT, ALT 2ª semana, cociente ALT 0/2 semana y cociente AST/ALT.**

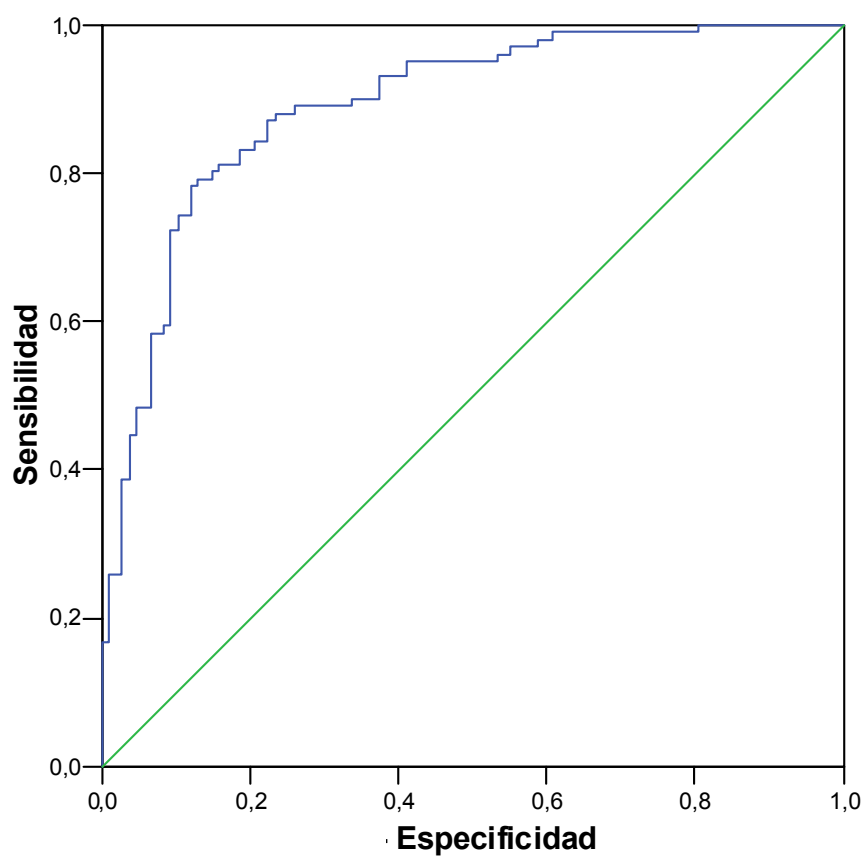
Tabla 30: Modelo de regresión logística para predicción del fracaso terapéutico primario con variables basales y de la 2ª semana

| Variables dicotómicas | Beta | E.E | p | OR | Intervalo de confianza al 95% | |
|-------------------------|-------|------|--------------|-------|-------------------------------|-----------------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| Carga viral (400000) | 1,66 | 0,55 | 0,002 | 5,25 | 1,78 | 15,35 |
| GGT (<40 vs. 40-60) | 1,69 | 0,58 | 0,003 | 5,42 | 1,75 | 16,81 |
| GGT (<40 vs. >60) | 2,42 | 0,48 | 0,000 | 11,26 | 4,51 | 28,14 |
| ALT 2semana (70) | 0,79 | 0,44 | 0,069 | 2,21 | 0,94 | 5,18 |
| Cociente AST/ALT (0,64) | 0,92 | 0,42 | 0,03 | 2,51 | 1,10 | 5,73 |
| Cociente ALT0/2s* | -0,66 | 0,26 | 0,01 | 0,52 | 0,31 | 0,86 |
| Genotipo1b (Si/No) | 1,39 | 0,47 | 0,003 | 4,01 | 1,60 | 10,05 |
| Colesterol (170) | 1,15 | 0,42 | 0,01 | 3,17 | 1,40 | 7,16 |
| Plaquetas (150000) | 1,23 | 0,59 | 0,04 | 3,42 | 1,08 | 10,83 |
| Constante | -4,27 | 0,94 | 0,000 | 0,014 | | |

EE: error estándar, IC 95%: intervalo de confianza al 95%. **Especificidad: 85%, Sensibilidad 79,2%.** * Variable continua

Este modelo de regresión logística tienen una alta capacidad de predecir una buena respuesta (especificidad 85%) y el fracaso (sensibilidad 79,2%), con las curvas de rendimiento COR de la Fig. 32.

Figura 32 Curva COR del modelo multivariante



| Área | ES | p | Intervalo de confianza al 95% | |
|------|-------|-------|-------------------------------|-----------------|
| | | | Límite inferior | Límite superior |
| 0,89 | 0,022 | 0,000 | 0,85 | 0,93 |

Si incluimos únicamente los parámetros basales (excluida la segunda semana), el modelo de regresión logística se resume en la Tabla 31 con una especificidad del 81,6% y sensibilidad del 81% para predecir la respuesta y el fracaso, con las curvas de rendimiento COR de la Fig. 33.

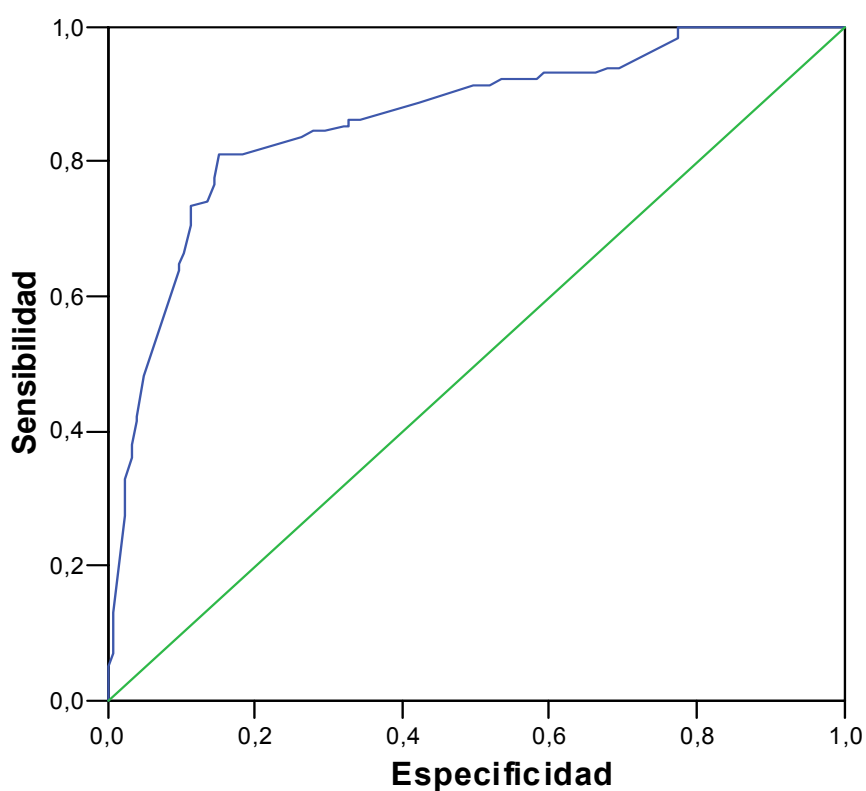
Tabla 31: Modelo de regresión logística para predicción del fracaso terapéutico primario a partir de variables basales.

| Variables dicotómicas | Beta | E.E | p | OR | Intervalo de confianza al 95% | |
|-----------------------|--------|------|--------------|-------|-------------------------------|-----------------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| Carga viral (400000) | 2,25 | 0,52 | 0,000 | 9,52 | 3,43 | 26,46 |
| GGT (<40 vs. 40-60) | 1,62 | 0,51 | 0,001 | 5,06 | 1,87 | 13,69 |
| GGT (<40 vs. >60) | 2,08 | 0,40 | 0,000 | 7,80 | 3,69 | 17,36 |
| Coc. AST/ALT (0,64) | 1,18 | 0,35 | 0,001 | 3,24 | 1,64 | 6,38 |
| Genotipo1b | 0,98 | 0,40 | 0,014 | 2,68 | 1,22 | 5,87 |
| Colesterol (170) | 1,18 | 0,36 | 0,001 | 3,26 | 1,62 | 6,55 |
| Plaquetas (150000) | 1,27 | 0,48 | 0,008 | 3,54 | 1,39 | 9,07 |
| Constante | -5,355 | 0,76 | 0,000 | 0,005 | | |

EE: error estándar, Coc.: cociente, OR: odds ratio.

Especificidad: 81,6%, Sensibilidad 81%

Fig. 33: Curva COR del modelo multivariante con variables basales



| Área | ES | p | Intervalo de confianza al 95% | |
|------|-------|--------------|-------------------------------|-----------------|
| | | | Límite inferior | Límite superior |
| 0,86 | 0,024 | 0,000 | 0,81 | 0,91 |

A partir de estos modelos se ha creado la **ecuación** para determinar la probabilidad de fracaso primario al tratamiento combinado a partir de variables basales (Fig. 34). En la Tabla 32 aparecen los valores a introducir en la ecuación.

Figura 34: Ecuación para la probabilidad de fracaso primario a partir de variables basales

$$P = \frac{1}{1 + e^{-(-5,36 + 2,25 \cdot \text{CV} + 1,62 \cdot \text{GGT1} + 2,08 \cdot \text{GGT2} + 1,18 \cdot \text{AST/ALT} + 0,98 \cdot \text{Subt} + 1,18 \cdot \text{Col} + 1,27 \cdot \text{plaq})}}$$

P: probabilidad de fracaso primario, **CV**: carga viral, **AST/ALT**: cociente AST/ALT, **Subt**: subtipo, **Col**: colesterol, **plaq**: plaquetas.

Tabla 32: Valor a introducir en la ecuación

| VARIABLE | Valor a introducir en la ecuación | |
|-------------------------|-----------------------------------|----------|
| | 0 | 1 |
| Carga viral | < 400000 | ≥ 400000 |
| GGT1 | ≤ 40 | 40-60 |
| GGT2 | ≤ 40 | > 60 |
| Cociente AST/ALT | ≤ 0,64 | > 0,64 |
| Subtipo | No 1b | 1b |
| Colesterol | > 170 | ≤ 170 |
| Plaquetas | > 150000 | ≤ 150000 |

Con este modelo podemos estimar que presentar al principio del tratamiento una alta carga viral (>400000), GGT mayor de 60, un cociente AST/ALT mayor de 0,64, plaquetas menores de $150000/\mu\text{L}$, colesterol menor de 170 y subtipo tiene una probabilidad de fracaso cercana al 100% (97,3%). Por el contrario no presentar dichos valores hace que la probabilidad de fracaso descienda hasta el 0,4%, Apéndice I.

En la Tabla 33 se han incluido diferentes ejemplos y probabilidades de fracaso al tratamiento combinado en la hepatitis crónica por virus C.

Tabla 33: Probabilidad de fracaso primario

| Carga viral 400000 | GGT | AST/ALT 0,64 | Plaquetas 150000 | Colesterol 170 | Genotipo 1b | Probabilidad fracaso % |
|-----------------------|-----------|-----------------|---------------------|-------------------|----------------|------------------------------|
| > | > 60 | \geq | \leq | \leq | Sí | 97,3 |
| \leq | ≤ 40 | < | > | > | No | 0,4 |
| \leq | ≤ 40 | < | > | > | Si | 1 |
| \leq | 41-60 | < | > | \leq | Si | 17 |
| \leq | 41-60 | < | \leq | \leq | No | 21,6 |
| > | ≤ 40 | \geq | \leq | \leq | Si | 81,8 |
| \leq | 41-60 | < | \leq | > | Si | 18,4 |
| > | ≤ 40 | < | > | > | Si | 10,7 |
| > | 41-60 | \geq | > | > | Si | 66,3 |
| > | ≤ 40 | < | \leq | \leq | Si | 58,1 |
| > | ≤ 40 | < | \leq | \leq | No | 34,2 |
| \leq | ≤ 40 | < | > | \leq | Si | 4 |
| > | 41-60 | < | > | \leq | Si | 66,5 |
| > | > 60 | \geq | > | > | Si | 75,7 |

VI. DISCUSIÓN

Aunque inicialmente toda persona infectada por el VHC podría ser candidata a recibir tratamiento antiviral, en el momento actual la indicación de tratamiento no es considerada universal y son pocos los pacientes (en relación con las tasas actuales de infección en el mundo) que finalmente lo reciben.

Los enfermos de hepatitis crónica por el VHC tratados con interferón pegilado (PEG-INF) y ribavirina (RBV) pueden seguir cinco cursos clínicos diferentes y sólo uno es la respuesta viral sostenida. Hecha la salvedad de los enfermos que abandonan el tratamiento y el seguimiento sin dar explicaciones, y que en nuestra experiencia son menos del 2% de aquéllos a quienes se proporciona la primera receta, hay enfermos que deben abandonar antes de terminar, generalmente en las primeras semanas, por intolerancia analítica o subjetiva. Aunque hay algunas circunstancias basales que permiten identificar algunos enfermos con mayores probabilidades de no tolerar el tratamiento, como la edad avanzada o recuentos hemáticos ligeramente por debajo de la media, no son suficientes para justificar una negativa terapéutica.

Quedan dos grupos de enfermos en los que el tratamiento fracasa, ya sea de forma primaria o tras una respuesta viral transitoria. En el análisis estadístico de este estudio hemos analizado en conjunto ambos grupos y de forma selectiva el grupo de fracaso viral primario, y hemos decidido hacer mayor hincapié en los resultados obtenidos para estos últimos por varias razones que es necesario explicar. Ante todo, porque los resultados son

mucho más discriminativos que para los enfermos que sufren fracaso secundario y por tanto mucho más aplicables en la práctica, como avala la ecuación que proponemos en este estudio. En segundo lugar, porque éste es el grupo más numeroso y en tercer lugar porque la actuación clínica es diferente en uno y otro grupo.

También hay que justificar por qué hemos limitado nuestro análisis a los enfermos infectados por genotipo viral 1.

El genotipo es uno de los parámetros predictivos que definen actualmente la estrategia de tratamiento y la probabilidad de éxito terapéutico, y es el factor predictivo basal más importante de respuesta al tratamiento (180,234). En nuestra población, como en el resto de estudios de incidencia españoles, europeos y estadounidenses (107,118,119,124,125,234-236), el genotipo 1 es el más frecuente, además de ser el de peor respuesta al tratamiento en comparación con los genotipos 2 y 3 con Odds ratio (OR) en nuestro caso de 3,25 y 6,23 respectivamente.

Las tasas de respuesta viral sostenida (RVS) para el genotipo 1 descritas en la literatura van del 34% al 52% (108,125,126,171,180). En nuestro estudio las tasas de RVS globales del genotipo 1 obtenidas tras el tratamiento combinado fueron tan sólo del 35,6%, y alcanzaron el 42,15% si incluimos los pacientes que completaron el tratamiento según guía clínica (excluidos los intolerantes).

Los pacientes con genotipo 4 se comportan de forma similar (172) pero son muy pocos y hemos preferido no incluirlos en el análisis para evitar posibles desviaciones. Los pacientes con genotipos 2 y 3 tienen una tasa de

respuesta mucho mejor y habitualmente se les ofrece tratamiento sin más restricciones que las que implican posibles contraindicaciones específicas. Sin embargo, los enfermos con genotipo 1 tienen muchas probabilidades de fracasar y si fuera posible limitar la indicación a aquéllos con mejores probabilidades de responder, se evitarían tratamientos inútiles, costosos y penosos para el paciente.

Los enfermos con fracaso viral primario no tienen, de momento, otra opción terapéutica ampliamente admitida y sólo cabe mantener un seguimiento en espera de nuevas terapias. No obstante, esta situación puede cambiar en breve a la vista de los resultados del estudio REPEAT, que propone incrementar la duración del tratamiento a 72 semanas en aquellos enfermos que se sometan a un segundo intento terapéutico tras un primer fracaso. Sin embargo, dado el coste del tratamiento y su prolongada duración, parece prudente esperar al menos a que los resultados de este estudio se publiquen en forma de artículo original, y no sólo como *abstract* de un congreso (229). Los enfermos que presentan un riesgo elevado de presentar recidiva tras respuesta viral transitoria se pueden identificar a lo largo de las primeras semanas del tratamiento y ello permite aplicar estrategias que reducen este riesgo. La respuesta viral rápida (carga viral no detectable en la semana 4ª del tratamiento) es el mejor criterio de respuesta, ya que el 90 % de los enfermos que la obtienen consiguen RVS. Sin embargo, sólo una minoría de pacientes con genotipo 1 logran este objetivo (11 % de los pacientes de nuestra casuística con genotipo 1 en quienes se ha hecho esta determinación). El resto debe ser examinado de nuevo en la semana 12ª. Si la viremia se hace no detectable (respuesta viral precoz

completa), la probabilidad de conseguir RVS es del 70 %, aproximadamente. Sin embargo, si la carga viral desciende $\geq 2 \log_{10}$ sobre la basal pero no se negativiza, estamos ante una respuesta viral temprana parcial y la posibilidad de que estos enfermos consigan RVS es inferior al 20 % en todos los estudios (115,218,221) y en la mayoría de los casos los enfermos negativizan la viremia en la semana 24, terminan el tratamiento y recidivan 24 semanas después. Por lo tanto, más importante que detectar estos pacientes antes de empezar el tratamiento, es hacerlo durante el mismo y prolongar el tratamiento hasta 72 semanas o incluso más en aquellos que sólo consiguen respuesta viral precoz parcial (218,221,237).

Como decíamos al principio la respuesta de los pacientes con hepatitis crónica por virus C a la terapia combinada de PEG-INF y RBV es heterogénea (175). Esto ha motivado la realización en los últimos años de numerosos estudios que tratan de identificar los factores basales que influyen en una respuesta favorable o desfavorable al tratamiento, incluidos factores dependientes del virus, del tratamiento y del propio paciente.

Los dos factores basales más importante predictores de respuesta descritos hasta el momento en la literatura son el **genotipo** y el **estadio de fibrosis**. Otros factores que se han implicado también son la carga viral, la raza, la edad avanzada, el IMC, el depósito graso en hígado, el sexo y los niveles de GGT.

Entre *los factores dependientes del paciente*, la **edad** ha sido señalada en la mayoría de los estudios como un factor predictivo independiente, siendo la población de menor edad la que mejor responde

(108,119,120,125,126,151,176,181,189,190,191,238). Esto coincide con los resultados de nuestro estudio, en el que la edad en el grupo de RVS es significativamente menor que en el de FVP. Hemos establecido el límite en 45 años, que es la edad que mejor marca la respuesta, y la que hemos incluido por tanto en la ecuación.

La **raza** negra es otro factor de mala respuesta en varios estudios realizados (190,191,239,240). No hemos podido valorar este aspecto en nuestro estudio ya que la inmensa mayoría de nuestros pacientes son españoles de raza blanca, con una mínima representación de pacientes procedentes de países de Europa del Este (especialmente Rumanía) y de Latinoamérica (Perú y Ecuador).

Otro factor de menor impacto por presentar resultados contradictorios es el **sexo**, con una mejor respuesta en el femenino para algunos autores (120,176,181,189-191,241). En nuestro estudio por el contrario no encontramos diferencias significativas en la respuesta entre hombres y mujeres (52,8% vs. 54,3%, p 0,82), lo cual coincide con otro estudio español de Romero-Gómez y cols. (180). En un reciente trabajo, Kogure y cols. (171) encuentran una peor respuesta en mujeres de edad más avanzada. No consideramos por nuestra experiencia que el sexo sea un factor predictivo de respuesta.

Estudios retrospectivos han revelado que un **IMC** superior a 30 kg/m² afecta negativamente y de forma independiente del genotipo del VHC o del estadio de fibrosis (125,126,176,189,237). Éste no ha sido un factor que hayamos estudiado en nuestro trabajo, ya que en nuestra práctica diaria se

ajustan las dosis de PEG-INF y RBV al peso del paciente y no disponemos en todos ellos de la talla, dato necesario para calcular el IMC. Tampoco hemos podido valorar la resistencia a la insulina como factor asociado a la respuesta terapéutica, ya que no disponemos de determinación de insulinemia en la gran mayoría de los enfermos.

Dentro de los parámetros hematológicos basales, el recuento plaquetario es un factor analizado en pocos estudios de predicción de respuesta. En el nuestro, el recuento plaquetario es más alto en los enfermos que obtuvieron RVS que en los que sufrieron fracaso primario ($217613 \pm 64166/\mu\text{L}$ vs. $188992 \pm 56029/\mu\text{L}$, $p < 0,001$). Es bien sabido que el recuento plaquetario es inversamente proporcional al estadio de fibrosis, y la fibrosis es un factor predictivo de mala respuesta. El recuento plaquetario es un marcador subrogado de fibrosis con alta sensibilidad y especificidad, y en este estudio lo hemos incluido en lugar del estadio histológico de fibrosis porque esto último nos hubiera obligado a limitar el estudio a los pacientes con biopsia hepática, que son menos del 70 % del total de la serie.

También hemos identificado diferencias significativas en la bilirrubinemia total basal, que es menor en los enfermos que obtuvieron RVS que en los que sufrieron FVP ($0,82 \pm 0,34$ vs. $0,93 \pm 0,48$, $p = 0,04$).

Las cifras basales de **GGT** fueron también menores en los pacientes con RVS que en el grupo de FVP (mediana 37, rango 25-69 vs. mediana 79, rango 53-148, $p < 0,001$). Este hallazgo coincide con los proporcionados por los estudios de Villela-Nogueira y cols. (242) y Bergmann y cols (243), en los que los pacientes con cifras de GGT por debajo del doble del límite superior

de la normalidad tuvieron una mejor tasa de respuesta. En nuestro estudio hemos observado una clara diferencia entre los pacientes que presentaban niveles por debajo de 40, entre 40 y 60 y más de 60 UI/ml, y hemos encontrado que los pacientes incluidos en los dos últimos grupos presentan respectivamente una OR de 5,42 y 11,26 respecto a los del primer grupo.

En nuestro estudio, los valores de ALT y AST basales no son factores predictivos de respuesta al tratamiento, a diferencia de lo señalado en otros trabajos (126,176,190,217-220,238,241,244). Sin embargo, ambas variables asociadas como **cociente AST/ALT**, establecen un criterio con valor predictivo de respuesta, siendo indicativo de mayor riesgo de fracaso un cociente igual o superior a la unidad (103, 245-247). En nuestro estudio el mejor punto de corte para establecer el valor discriminativo de esta variable es 0,64.

Los niveles de **colesterol** han sido ya valorados en anteriores estudios como factor predictivo independiente con diferentes resultados. Para Romero-Gómez y cols. (180) no es un factor relevante, sin embargo para Akuta y cols. (248) las cifras de colesterol LDL basales menores de 86 mg/dL en pacientes con genotipo 1 se asociaban con peor respuesta. También en el estudio de del Valle y cols. (249), en pacientes coinfectados con VIH, los niveles basales de colesterol son determinantes de la respuesta. En nuestro trabajo, cifras más bajas de colesterol basal se muestran como un factor predictivo independiente de mala respuesta, ya que fueron significativamente más bajas en los pacientes con FVP que en los que obtuvieron RVS (163 ± 34 vs. 189 ± 37 , $p < 0,001$). Los pacientes con cifras de colesterol iguales o menores de 170 mg/dl, tuvieron una mayor

probabilidad de fracaso, con una OR de 3,17 respecto a los pacientes con cifras mayores de 170mg/dl.

No hemos estudiado las modificaciones de la glucemia ya que este dato falta en algunos enfermos y su inclusión hubiera reducido el tamaño muestral. Este factor está muy relacionado con la resistencia a la insulina, con o sin diabetes manifiesta, y hay estudios que establecen su valor como criterio pronóstico de respuesta desfavorable. (180,183), y una mejoría de la tasa de respuesta en los pacientes en los que se consigue un control metabólico adecuado (250).

Se conoce el efecto que puede tener el tratamiento con interferón sobre el tiroides, pudiendo ser el causante de desórdenes tiroideos como hipertiroidismo, hipotiroidismo o ambos, pero no se ha descrito hasta el momento si el estado hormonal tiroideo basal puede influir en la respuesta al tratamiento. En nuestro estudio los niveles basales de **TSH** son menores en los pacientes con RVS ($1,69 \pm 1,01$ vs. $2,12 \pm 1,55$, $p=0,02$), que además tienen niveles más altos de T4 ($12,05 \pm 2,17$ vs $11,34 \pm 2,46$, $p=0,03$). Este hallazgo es original, ya que no había sido comunicado previamente por otros grupos. Sí es sabido que los enfermos con infección crónica por VHC muestran una mayor frecuencia de afectación tiroidea que la población general equiparable, probablemente debido a que el VHC replica en el tejido tiroideo (251). Esta situación de leve deficiencia hormonal tiroidea podría influir sobre la eficacia del tratamiento, aunque no podemos aventurar en qué modo.

La hiperferritinemia es un hallazgo común en muchas enfermedades hepáticas adquiridas como la hepatitis crónica por virus C (252). Puede ser un indicador de sobrecarga de los depósitos de hierro en los tejidos, aunque también puede verse aumentada en situaciones de estimulación crónica inmune (253).

En el análisis de la posible asociación entre los índices séricos de hierro, índice de saturación de transferrina, los niveles de **ferritina** basales y la respuesta virológica, Lin y cols. (254) no encuentran diferencias en la respuesta según los niveles basales. En nuestro estudio, disponemos de determinación de ferritina basal en 68 pacientes de cada grupo, siendo más alta en los pacientes con FVP que en los del grupo de RVS, con una mediana de 251,5 (rango 113,5-446) frente a una mediana de 130,5 (rango 62,05-296,25), que aunque no llega a alcanzar significación estadística ($p=0,54$), debido a la gran dispersión de los valores, sugiere que la hiperferritinemia puede ser un factor predictivo de fracaso viral primario. En efecto, en un análisis posterior de nuestra casuística, con mayor número de pacientes en cada grupo, aunque incluyendo todos los genotipos virales, hemos comprobado cómo esta diferencia alcanza significación estadística (255).

Según el mismo estudio de Lin y cols. (254), la existencia de depósito de hierro en tejido hepático se ha relacionado con una pobre respuesta al tratamiento. Nuestro estudio no confirma este hallazgo, ya que la existencia de siderosis hepática en los casos con biopsia disponible no ha influido en la respuesta. De hecho, hemos constatado que la sobrecarga férrica, considerando como tal la positividad de la tinción de Perls en la biopsia

hepática, en pacientes con hepatitis C estudiados en nuestra unidad y sometidos a la misma antes de cualquier actuación terapéutica sobre la hepatitis C, sólo está presente en el 5,9 % de los 136 pacientes estudiados, lo que indica que, al menos en nuestra experiencia, la sobrecarga férrica es infrecuente en la hepatitis crónica C.

Se han analizado parámetros bioquímicos de la segunda semana de tratamiento, encontrando que los niveles de **GGT** en la segunda semana de tratamiento, al igual que los basales, fueron significativamente menores en los pacientes con RVS. Por el contrario, el **colesterol** en la segunda semana fue mayor en los pacientes con RVS ($171,53 \pm 30,66$ vs. $155,34 \pm 30,97$, $p=0,003$).

El descenso de la ALT en la segunda semana no alcanzó significación estadística como criterio diferencial, pero sí confirmamos un hallazgo reciente de Turbide y cols. (256), que detectan que la rapidez del descenso de ALT en las dos primeras semanas de tratamiento (cociente ALT basal/ALT 2ª semana) sí es significativamente más marcado en los pacientes que experimentaron RVS.

La **esteatosis hepática** se ha detectado en el 22% de los pacientes a los que se les realizó biopsia hepática, un porcentaje mayor de lo descrito por Jian Wu y cols. (255) del 10,5% y el mismo al encontrado por Reddy y cols. (258). La presencia de esteatosis ha sido en nuestro estudio un factor de mala respuesta al tratamiento ($p=0.046$). Este resultado coincide con otros estudios publicados hasta el momento. Harrison y cols. (259), obtiene unas tasas globales de RVS del 28% en presencia de esteatosis frente al

44% en los pacientes sin esteatosis ($p=0,001$). Sin embargo, las diferencias en el caso de genotipo 1 no alcanzaron significación estadística (23% vs 34%, $p=0,19$) a diferencia de lo que obtenemos en nuestro estudio. Otros trabajos no encuentran una peor respuesta ante la presencia de esteatosis de forma global (180) o en el genotipo 1 (258).

Algunos autores recomiendan la reducción de los depósitos de grasa en tejido hepático antes de iniciar el tratamiento, mediante el control de los factores causantes de la misma, como medida de mejora de la respuesta (181,260). Con este objetivo, Romano y cols. (261) realizaron un estudio en el que se administró L-Carnitina en asociación con el tratamiento combinado con el objetivo de reducir el grado de esteatosis hepática, y obtuvieron una tasa de RVS del 46% frente al 39% del grupo que no la tomó, pero el estudio se realizó en un grupo demasiado pequeño de pacientes (35 pacientes) como para obtener conclusiones.

El grado de actividad necroinflamatoria no ha sido un factor de mala respuesta en nuestro análisis; estos datos coinciden con los resultados de Romero-Gómez y cols. (180).

La cirrosis estaba presente en el 7,6% de nuestros pacientes a los que se les practicó biopsia hepática. La cirrosis ha sido en nuestro estudio, como en otros muchos estudios un factor predictivo basal de mala respuesta (108,119,120,125,126,151,176,180,181,189,190,237,253), y la presencia de un mayor grado de fibrosis se asoció con una progresiva menor tasa de respuesta viral sostenida.

En nuestro estudio, en el grupo de pacientes con biopsia disponible presentan una mayor tasa de respuesta los pacientes con menor grado de fibrosis (0-1) que los pacientes con fibrosis avanzada (3-4) (65,7% vs 44,7%, $p=0,003$). Esta mala respuesta en pacientes con fibrosis avanzada, sin embargo, es mejor que la documentada por algunos estudios (262,263) en los que la respuesta de los pacientes que tienen fibrosis avanzada es 2-3 veces peor.

Algunos estudios se replantean la conveniencia de tratar este grupo de pacientes, más aún cuando las complicaciones del tratamiento son más frecuentes, no obstante es probable que sea el grupo que más se pueda beneficiar de la erradicación del virus en la evolución de la enfermedad (264) y el desarrollo de hepatocarcinoma.

Entre los *factores virales*, el **genotipo y la carga viral** basal son marcadores de respuesta viral sostenida ampliamente descritos con anterioridad (108,119,120,125,126,176,178-180).

En nuestra población el genotipo más relevante, y objetivo del estudio, es el genotipo 1 y el **subtipo** predominante el 1b (75%). Este subgrupo tuvo una respuesta significativamente peor que los demás genotipos 1, incluyendo el 1a y el 1 indeterminado, con una respuesta viral sostenida del 37.4% frente al 56.1%, ($p= 0,003$), dato que coincide con un reciente estudio en el que los pacientes con genotipo 1a presentaron mayores tasas de RVS (241), sin que haya otras referencias en la literatura a esta notable diferencia.

La **carga viral** basal también es una variable ampliamente estudiada en múltiples trabajos (119,120,238,241), y aunque no se ha relacionado con el daño hepático, los pacientes con alta carga viral presentan una tasa de RVS menor, lo que de nuevo coincide con nuestros resultados.

Nuestra población presenta en su mayoría una alta carga viral, con un 75% de pacientes con una carga viral mayor de 400000 UI/mL. Hemos seleccionado este punto de corte, en lugar de más ampliamente difundido de 800.000, porque datos muy recientes lo establecen como el tiene que mejor validez pronóstica de respuesta (187,188,218,265).

La carga viral es un factor que ha empezado a tener relevancia en la práctica clínica en la toma de decisiones, a la hora de definir la pauta de tratamiento. En dos estudios recientes se ha introducido una modificación de la dosis de PEG-INF en pacientes con carga alta. Fried y cols. (223) emplearon en pacientes naïve con alta carga, definida en este caso como mayor de 800.000 UI/mL, mayores dosis iniciales tanto de PEG-INF (270 µg/semana) como de RBV (1600 mg/d), obteniendo mejores tasas de RVS que los pacientes con menores dosis de ambos fármacos (180µg/semana y 1200 mg/d, respectivamente). Entre los *factores dependientes del tratamiento*, se ha objetivado en diferentes estudios que las fórmulaciones disponibles de PEG-INF poseen una actividad antivírica similar en el genotipo 1 cuando se dan las dosis ajustadas al peso de RBV (121,180,266), así como en pacientes no respondedores a una terapia combinada con interferón estándar (267). Sin embargo, Xie y cols. (247) señalan haber obtenido una tasa mejor de respuesta con PEG-INF alfa-2a que con PEG-INF α2B, con una OR de 0,26, (IC 95%: 0,052-0,212). Con estos resultados

coinciden otros dos estudios más recientes, los de Backus y cols. (268) y Craxi y cols. (241) que obtienen también mejores tasas de RVS con PEG-INF alfa-2a. En nuestro caso la proporción de pacientes tratados con PEG-INF alfa-2a es pequeña, por lo que no podemos ofrecer datos contrastados, pero en el conjunto de nuestros enfermos de hepatitis C, incluyendo los de todos los genotipos, la eficacia es muy parecida con ambas presentaciones (datos no publicados). Es sabido que el ajuste de dosis de RBV al peso es un factor que mejora las tasas de respuesta (152), y por lo tanto en nuestra práctica habitual se realiza de forma sistemática.

Los pacientes que fueron sometidos a un segundo intento de tratamiento obtuvieron respuesta viral sostenida en la mitad de los casos (51,4%), sin diferencias significativas con los pacientes con primer tratamiento. En este grupo no se ha podido analizar por separado el tipo de tratamiento previo realizado ni el tipo de fracaso previo, lo que limita en nuestro estudio el análisis de los resultados.

Foster y cols. (238) han seguido una metodología muy similar a la nuestra y han propuesto, utilizando un modelo de regresión a partir de variables basales, su propia ecuación en la que se encuentran incluidos las variables: edad, fibrosis, ALT, IMC y carga viral. Un resultado similar es el obtenido por Martens y cols. (269), que incluye como variables la edad, GGT, carga viral, colesterol y presencia de fibrosis avanzada.

El análisis multivariante al que hemos sometido nuestros resultados ha detectado los siguientes factores independientes de respuesta: carga viral, genotipo 1b, plaquetas, GGT, cociente AST/ALT y colesterol. Hemos

creado un modelo predictivo para el desarrollo de una ecuación que permite calcular la probabilidad de fracaso viral primario a partir de estos factores. Este modelo presenta una alta especificidad y sensibilidad (81,6% y 81%) para la estimar la probabilidad de fracaso terapéutico.

La obtención de la probabilidad de fracaso en un paciente con genotipo 1 nos ayuda a poder orientar al paciente en la decisión de tratarse, así como la posible modificación de la pauta de tratamiento.

Con este modelo observamos cómo se reducen de forma significativa las tasas de éxito en pacientes con alta carga viral (mayor de 400000 UI/mL), subtipo 1b, plaquetas bajas (menor o igual de 150000/ μ L), GGT alta (con tres categorías: ≤ 40 , > 40 y ≤ 60 y > 60 U, cociente AST/ALT alto (mayor de 0,64) y colesterol bajo (menor o igual de 170 mg/dL).

Este modelo de regresión logística permite el análisis, en términos de probabilidades, del grado de contribución de las variables predictoras de fracaso o éxito terapéutico. Utilizados adecuadamente, de acuerdo con las guías clínicas actuales, podría ser una herramienta útil para predecir la probabilidad de que un paciente obtenga RVS, así como ayudar a los enfermos a comprender mejor su propia probabilidad de éxito, y a *definir cuál es la subpoblación de pacientes infectados por el VHC que deben recibir tratamiento* y en quiénes puede demorarse su prescripción

VII. CONCLUSIONES

1. El estudio de variables clínicas, analíticas y virológicas previo al inicio del tratamiento combinado con interferón pegilado y ribavirina en los pacientes con infección crónica por VHC genotipo 1 ayuda a predecir la respuesta al tratamiento.

2. Los factores basales, identificados en este estudio mediante análisis multivariante, con capacidad predictiva independiente de la respuesta al tratamiento antiviral combinado en los pacientes infectados por el genotipo 1 son el subtipo viral, la carga viral, la GGT, el cociente AST/ALT, el recuento plaquetario y el colesterol plasmático.

3. Estos criterios basales adecuadamente procesados proporcionan una ecuación que permite predecir de manera individualizada y con un margen de fiabilidad clínicamente válido la probabilidad que tiene un enfermo determinado de sufrir fracaso viral primario.

4. La mala tolerancia al tratamiento actual y la variabilidad de la respuesta al mismo avalan la conveniencia de disponer de criterios pronósticos de respuesta, como el que se propone en este estudio, para proporcionar a los enfermos y a sus médicos un elemento útil en el que basar la toma de decisiones terapéuticas.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Choo QI, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B hepatitis. Science 1989;244:359-62.
- (2) Kuo G, Choo GL, Alter HJ, Gitnick GL, Redeker AG, Purcell RH, et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of a human non-A, non-B hepatitis. Science 1989;244:362-64.
- (3) Robertson B, Myers G, Howard C, Brettin T, Bukh J, Gaschen B, et al. Classification nomenclature and database development for hepatitis C virus and related viruses: proposals for standardization. Arch Viral 1998;143:2493-2503.
- (4) Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. N Engl J Med 2001;345:41-52.
- (5) Hwang SB, Lo SY, Ou JH, Lai MM. Detection of cellular proteins and viral core protein interacting with the 5' untranslated region of hepatitis C virus RNA. J Biomed Sci 1995;2:227-36.
- (6) Matsumoto M, Hwang SB, Jeng KS, Zhu N, Lai MM. Homotypic interaction and multimerization of hepatitis C virus core protein. Virology 1996;218:43-51.
- (7) Shimoike T, Mimori S, Tani H, Matsuura Y, Miyamura T. Interaction of hepatitis C virus core protein with viral sense RNA and suppression of its translation. J Virol 1999; 73:9718-25.
- (8) Carrick RJ, Schlauder GG, Peterson DA, Mushahwar IK. Examination of the buoyant density of hepatitis C virus by the polymerase chain reaction. J Virol Methods 1992;39:279-89.

- (9) Choo SH, So HS, Cho JM, Ryu WS. Association of hepatitis C virus particles with immunoglobulin: a mechanism for persistent infection. *J Gen Virol*. 1995;76:2337-41.
- (10) Umlauf F, Wong DT, Oefner PJ, Underhill PA, Cheung RC, Wright TL, et al. Hepatitis C virus detection by single-round PCR specific for the terminal 3' noncoding region. *J Clin Microbiol* 1996;34:2552-58.
- (11) Selby MJ, Glazer E, Masiarz F, Houghton M. Complex processing and protein: protein interactions in the E2:NS2 region of HCV. *Virology* 1994;204:114-22.
- (12) Simmonds P. Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus-15 years on. *J Gen Virol* 2004;85:3173-88.
- (13) Simmonds P, Bukh J, Combet C, Deléage G, Enomoto N, Feinstone S, et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology* 2005;42:962-73
- (14) The Global Burden of Hepatitis C Working Group. Global burden of disease (GBD) for hepatitis C. *J Clin Pharmacol* 2004;44:20-29.
- (15) Wasley A, Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C: Geographic differences and temporal trends. *Sem Liv Dis* 2000;20:1-16.
- (16) Law MG, Dore GJ, Bath N, Thompson S, Crofts N, Dolan K, et al. Modelling hepatitis C virus incidence, prevalence and long-term sequelae in Australia, 2001. *Int J Epidemiol* 2003;32:717-24.

- (17) Armstrong GL, Wasley A, Simard EP, McQuillan GM, Kuhnert WL, Alter MJ. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002. *Ann Intern Med* 2006;144:705-14.
- (18) Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan OV, McQuillan GM, Gao F, Moyer LA, et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med* 1999;341:556-62.
- (19) Abdel-Aziz F, Habib M, Mohamed MK, Abdel-Hamid M, Gamil F, Madkour S, et al. Hepatitis C virus (HCV) infection in a community in the Nile Delta: population description and HCV prevalence. *Hepatology* 2000;32:111-15.
- (20) Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C. *Hepatology* 1997;26:62S-65S.
- (21) Deuffic S, Poynard T, Valleron AJ. Correlation between hepatitis C virus prevalence and hepatocellular carcinoma mortality in Europe. *J Viral Hep* 1999;6:411-13.
- (22) Arroyo Fernandez A, Carbone Cote MT. Hepatitis C serology: prevalence study in postmortem population. *An Med Interna*. 2006;23:260-63.
- (23) Saiz de la Hoya P, Bedia M, Murcia J, Cebria J, Sanchez-Paya J, Portilla J. Predictive markers of HIV and HCV infection and co-infection among inmates in a Spanish prison. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2005;23:53-57.
- (24) Perz JF, Armstrong GL, Farrington LA, Hutin YJ, Bell BP. The contributions of hepatitis B virus and hepatitis C virus infections to cirrhosis and primary liver cancer worldwide. *J Hepatol* 2006;45:529-38.

- (25) Pérez Mota A, Blanco Coronado MA, Graus Morales J, Rodero Vázquez de Castro R, Pérez Muñoz C, de Vicente Bach JL et al. Hepatitis crónica por virus C. Datos epidemiológicos y de eficacia terapéutica en 255 casos. *An Med Intern* 2006;23:257-59.
- (26) Busch MP, Glynn SA, Stramer SL, Strong DM, Caglioti S, Wright DJ, et al. A new strategy for estimating risks of transfusion-transmitted viral infections based on rates of detection of recently infected donors. *Transfusion* 2005;45:254-64.
- (27) Des Jarlais DC, Diaz T, Perlis T, Vlahov D, Maslow C, Latka M, et al. Variability in the incidence of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and hepatitis C virus infection among young injecting drug users in New York City. *Am J Epidemiol* 2003;157:467-71.
- (28) Pena MJ, Molina L, Hortal L, Gallego R, Rodríguez JL, Pérez MC, et al. Epidemiologic study of infection by hepatitis C virus in a hemodialysis unit. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2000;18:496-9.
- (29) Khapra AP, Agarwal K, Fiel MI, Kontorinis N, Hossain S, Emre S, et al. Impact of donor age on survival and fibrosis progression in patients with hepatitis C undergoing liver transplantation using HCV+ allografts. *Liver Transpl* 2006;12:1496-503.
- (30) Martinez-Bauer E, Foros X, Armellas M, Planas R, Sola R, Vergara M, et al. Hospital admission is a relevant source of hepatitis C virus acquisition in Spain. *J Hepatol* 2008;48:20-27.
- (31) Yazdanpanah Y, De Carli G, Miguere B, Lot F, Campins M, Colombo C, et al. Risk factors for hepatitis C virus transmission to health care workers

after occupational exposure: a European case-control study. *Clin Infect Dis* 2005;41:1423-30.

(32) Beltrami EM, Kozak A, Williams IT, Saekhou AM, Kalish ML, Nainan OV, et al. Transmission of HIV and hepatitis C virus from a nursing home patient to a health care worker. *Am J Infect Control* 2003;31:168-75.

(33) Hauri AM, Armstrong GL, Hutin YJ. The global burden of disease attributable to contaminated injections given in health care settings. *Int J STD AIDS* 2004;15:7-16.

(34) Frank C, Mohamed MK, Strickland GT, Lavanchy D, Arthur RR, Magder LS, et al. The role of parenteral antischistosomal therapy in the spread of hepatitis C virus in Egypt. *Lancet* 2000;355:887-91.

(35) Alter MJ. Prevention of spread of hepatitis C. *Hepatology* 2002; 36: S93-S98.

(36) Hwang LY, Kramer JR, Troisi C, Bull L, Grimes CZ, Lyster R, Alter MJ. Relationship of cosmetic procedures and drug use to hepatitis C and hepatitis B virus infections in a low-risk population. *Hepatology* 2006;44:341-51.

(37) Terrault NA. Sexual activity as a risk factor for hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S99-S105.

(38) Tumminelli F, Marcellin P, Rizzo S, Barbera S, Corvino G, Furia P, et al. Shaving as potential source of hepatitis C virus infection. *Lancet*. 1995;345:658-58.

- (39) Roberts EA, Yeung L. Maternal-infant transmission of hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2002;36:S106-S113.
- (40) Mast EE, Hwang LY, Seto DS, Nolte FS, Nainan OV, Wurtzel H, et al. Risk factors for perinatal transmission of hepatitis C virus (HCV) and the natural history of HCV infection acquired in infancy. *J Infect Dis* 2005;192:1880-89.
- (41) Dobosz S. The risk of vertical HCV transmission in children born to HIV infected mothers. *Przegl Epidemiol.* 2007;61:349-56.
- (42) Poynard, T, Bedossa, P, Opolon, P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINICIR, and DOSVIRC groups. *Lancet* 1997;349:825-32.
- (43) Chu, CM, Yeh, CT, Liaw, YF. Fulminant hepatic failure in acute hepatitis C: Increased risk in chronic carriers of hepatitis B virus. *Gut* 1999; 45:613-17.
- (44) Farci P, Shimoda A, Coiana A, Diaz, G, Peddis G, Melpolder, JC et al. The outcome of acute hepatitis C predicted by the evolution of the viral quasispecies. *Science* 2000;288:339-44.
- (45) Thursz M, Yallop R, Goldin R, Trepo C, Thomas HC. Influence of MHC class II genotype on outcome of infection with hepatitis C virus. The HENCORE group. Hepatitis C European Network for Cooperative Research. *Lancet* 1999;354:2119-24.
- (46) Alric L, Fort M, Izopet J, Vinel JP, Charlet JP, Selves J, et al. Genes of the major histocompatibility complex class II influence the outcome of hepatitis C virus infection. *Gastroenterology* 1997;113:1675-81.

- (47) Ishii K, Rosa D, Watanabe Y, Katayama T, Harada H, Wyatt C, et al. High titers of antibodies inhibiting the binding of envelope to human cells correlate with natural resolution of chronic hepatitis C. *Hepatology* 1998;28:1117-20.
- (48) Grakoui A, Shoukry NH, Woollard DJ, Han JH, Hanson HL, Ghrayeb J, et al. HCV persistence and immune evasion in the absence of memory T cell help. *Science* 2003;302:659-62.
- (49) Villano SA, Vlahov D, Nelson KE, Cohn S, Thomas DL. Persistence of viremia and the importance of long-term follow-up after acute hepatitis C infection. *Hepatology* 1999;29:908-14.
- (50) Spiegel BM, Younossi ZM, Hays RD, Revicki D, Robbins S, Kanwal F. Impact of hepatitis C on health related quality of life: A systematic review and quantitative assessment. *Hepatology* 2005;41:790-800.
- (51) Rodger AJ, Jolley D, Thompson SC, Lanigan A, Crofts N. The impact of diagnosis of hepatitis C virus on quality of life. *Hepatology* 1999;30:1299-1301.
- (52) Conry-Cantilena C, VanRaden M, Gible J, Melpolder J, Shakil AO, Viladomiu L et al. Routes of infection, viremia, and liver disease in blood donors found to have hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 1996;334:1691-96.
- (53) Haber MM, West AB, Haber AD, Reuben A. Relationship of aminotransferases to liver histological status in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 1995;90:1250-57.

- (54) Shakil AO, Conry-Cantelina C, Alter HJ, Hayashi P, Kleiner DE, Tedeschi V, et al. Volunteer blood donors with antibody to hepatitis C virus: Clinical, biochemical, virologic, and histologic features. The Hepatitis C Study Group. *Ann Intern Med* 1995;123:330-37.
- (55) Liang TJ, Rehermann B, Seeff LB, Hoofnagle JH. Pathogenesis, natural history, treatment, and prevention of hepatitis C. *Ann Intern Med* 2000;132:296-305.
- (56) Kenny-Walsh E. Clinical outcomes after hepatitis C infection from contaminated anti-D immune globulin. *N Engl J Med* 1999;340:1228-33.
- (57) Levine RA, Sanderson SO, Ploutz-Snyder R, Murray F, Kay E, Hegarty J, et al. Assessment of fibrosis progression in untreated Irish women with chronic hepatitis C contracted from immunoglobulin anti-D. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006;4:1271-77.
- (58) Bonkovsky HL, Banner BF, Rothman AL. Iron and chronic viral hepatitis . *Hepatology* 1997;25:759-68.
- (59) Pietrangelo A. Hemochromatosis gene modifies course of hepatitis C viral infection. *Gastroenterol* 2003;124:1509-23.
- (60) Guyader D, Thirouard AS, Erdtmann L, Rakba N, Jacquelinet S, Danielou H, et al. Liver iron is a surrogate marker of severe fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2007;46:587-95.
- (61) Powell EE, Edwards-Smith CJ, Hay JL, Clouston AD, Crawford DH, Shorthouse C, et al. Host genetic factors influence disease progression in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2000;31:828-33.

- (62) Seeff LB. Natural history of hepatitis C. *Hepatology* 1997; 26:S21-S28.
- (63) Garcia-Samaniego J, Soriano Y, Castilla J, Bravo R, Moreno A, Carbo J, et al. Influence of hepatitis C virus genotypes and HIV infection on histological severity of chronic hepatitis C. The Hepatitis/HIV Spanish Study Group. *Am J Gastroenterol* 1997;92:1130-34.
- (64) Cacciola I, Pollicino T, Squadrito G, Cerenzia G, Orlando ME, Raimondo G, et al. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease. *N Engl J Med* 1999;341:22-26.
- (65) Roudot-Thoraval F, Bastie A, Pawlotsky JM, Dhumeaux D. Epidemiological factors affecting the severity of hepatitis C virus-related liver disease: a French survey of 6,664 patients. The Study Group for the Prevalence and the Epidemiology of Hepatitis C Virus. *Hepatology* 1997;26:485-90.
- (66) Soto B, Sanchez-Quijano A, Rodrigo L, del Olmo JA, Garcia Bengoechea M, Hernandez Quero J, et al. Human immunodeficiency virus infection modifies the natural history of chronic parenterally-acquired hepatitis C with an unusually rapid progression to cirrhosis. *J Hepatol* 1997;26:1-5.
- (67) Feld JJ, Liang TK. Hepatitis C Identifygin Patients with Progressive Liver Injury. *Hepatology* 2006;43(Suppl 1):194-206.
- (68) Harris DR, Gonin R, Alter HJ, Harris DR, Gonin R, Alter HJ, Wright EC, Buskell ZJ, Hollinger FB, et al. The relationship of acute transfusion-associated hepatitis to the development of cirrhosis in the presence of alcohol abuse. *Ann Intern Med* 2001;134:120-24.

- (69) Ostapowicz G, Watson KJR, Locarnini SA, Desmond PV. Role of alcohol in the progression of liver disease caused by hepatitis C virus infection. *Hepatology* 1998;27:1730-35.
- (70) Pessione F, Degos F, Marcelli P, Duchatelle V, Njapoum C, Martinot-Peignoux M, et al. Effect of alcohol consumption on serum hepatitis C virus RNA and histological lesions in chronic hepatitis C. *Hepatology* 1998;27:1717-22.
- (71) Clouston AD, Jonsson JR, Purdie DM, Macdonald GA, Pandeya N, Shorthouse C, et al. Steatosis and chronic hepatitis C: Analysis of fibrosis and stellate cell activation. *J Hepatol* 2001;34:314-20.
- (72) Adinolfi LE, Gambardella M, Andreana A, Tripodi MF, Utili R, Ruggiero G. Steatosis accelerates the progression of liver damage of chronic hepatitis C patients and correlates with specific HCV genotype and visceral obesity. *Hepatology* 2001;33:358-64.
- (73) Hezode C, Roudot-Thoraval F, Nguyen S, Grenard P, Julien B, Zafrani ES, et al. Daily cannabis smoking as a risk factor for progression of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005;42:63-71.
- (74) Nelson DR, Marousis CG, Davis GL, Rice CM, Wong J, Houghton M, et al. The role of hepatitis C virus-specific cytotoxic T lymphocytes in chronic hepatitis C. *J Immunol* 1997;158:1473-81.
- (75) Asti M, Martinetti M, Zavaglia C, Cuccia MC, Gusberti L, Tinelli C, et al. Human leukocyte antigen class II and III alleles and severity of hepatitis C virus-related chronic liver disease. *Hepatology* 1999; 29:1272-79.

- (76) Bonis PAL, Tong MJ, Blatt LM, Conrad A, Griffith JL. A predictive model for the development of hepatocellular carcinoma, liver failure or liver transplantation for patients presenting to clinic with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 1999; 94:1605-12.
- (77) Benvegna LB, Pontisso P, Cavalletto D, Noventa F, Chemello L, Alberti A, et al. Lack of correlation between hepatitis C virus genotypes and clinical course of hepatitis C virus-related cirrhosis. *Hepatology* 1997;25:211-15.
- (78) Hatzakis A, Katsoulidou A, Kaklamani E, Touloumi G, Koumantaki Y, Tassopoulos NC, et al. Hepatitis C virus 1b is the dominant genotype in HCV-related carcinogenesis: A case-control study. *Int J Cancer* 1996;68:51-53.
- (79) Mihm S, Fayyazi A, Hartmann H, Ramadori G. Analysis of histopathological manifestations of chronic hepatitis C virus infection with respect to virus genotype. *Hepatology* 1997;25:735-39.
- (80) Farci P, Melpolder JC, Shimoda A, Peddis G, Strazzera A, Munoz S, et al. Studies of HCV quasispecies in patients with acute resolving hepatitis compared to those who progress to chronic hepatitis. *Hepatology* 1996;24:895(Suppl S).
- (81) Yano M, Kumada H, Kage M, Kage M, Ikeda K, Shimamatsu K, Inoue O, et al. The long-term pathological evolution of chronic hepatitis C. *Hepatology* 1996;23:1334-40.

- (82) Fattovich G, Giustina G, Degos F, Tremolada F, Diodati G, Almasio P, et al. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: A retrospective follow-up study of 384 patients. *Gastroenterology* 1997;112:463-72.
- (83) Brechot C, Jaffredo F, Lagorce D, Gerken G, Meyer zum Buschenfelde K, Papakonstantinou A, et al. Impact of HBV, HCV and GBV/HGV on hepatocellular carcinoma in Europe. Results of a European concerted action. *J Hepatol* 1998;29:173-83.
- (84) Hu, KQ, Tong, MJ. The long-term outcomes of patients with compensated hepatitis C virus- related cirrhosis and history of parenteral exposure in the United States. *Hepatology* 1999;29:1311-16.
- (85) Planas R, Balleste B, Alvarez MA, Rivera M, Montoliu S, Galeras JA, et al. Natural history of decompensated hepatitis C virus-related cirrhosis. A study of 200 patients. *J Hepatol* 2004;40:823-30.
- (86) Morishima C, Gretch DR. Clinical use of hepatitis C virus test for diagnosis and monitoring during therapy. *Clin Liver Dis* 1999;3:717-40.
- (87) Pawlotsky JM. Use and interpretation of virological test for hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S65-S73.
- (88) Salvadó M. Uso clínico de las pruebas de laboratorio disponibles para el diagnóstico de la hepatitis C. *Hepatitis hoy* 2005;1:129-37.
- (89) Pawlotsky JM. Diagnostic test for hepatitis C. *J Hepatol* 1999;31(Supl 1):71-79.
- (90) Ross RS, Viazov SO, Hoffmann S, Roggendorf M. Performance characteristics of a transcription-mediated nucleic acid amplification assay for

qualitative detection of hepatitis C virus RNA. J Clin Lab Anal 2001;15:308-13.

(91) Sarrazin C, Hendricks DA, Sedarati F, Zeuzem S. Assessment, by transcription-mediated amplification, of virologic response in patients with chronic hepatitis C virus treated with peginterferon alpha2a. J Clin Microbiol 2001;39:2850-55.

(92) Davis GL. Hepatitis C virus genotypes and quasispecies. Am J Med 1999;107 Supl 6B:21S-26S.

(93) Lee JH, Stripf T, Roth WK, Zeuzem S. Non-isotopic detection of hepatitis C virus quasispecies by single strand conformation polymorphism. J Med Virol 1997;53:245-51.

(94) Strader DR, Wright T, Thomas DL, Seeff LB. AASLD Practice Guidelines: Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C. Hepatology 2004;39:1147-71.

(95) Knodell RG, Ishak KG, Blacck WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. Hepatology 1981;1:431-35.

(96) Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. J Hepatol 1995;22:696-99.

(97) Scheuer PJ. Classification of chronic viral hepatitis: a need for reassessment. J Hepatol 1991;13:372-74.

- (98) Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology* 1996;24:289-93.
- (99) Pradat P, Alberti A, Poynard T, Esteban JI, Weiland O, Marcelin P, et al. Predictive value of ALT levels for histologic findings in chronic hepatitis C: a European collaborative study. *Hepatology* 2002;36:973-77.
- (100) Brillanti S, Folli M, Gaiani S, Masci C, Migloli M, Barbara L. Persistent hepatitis C viraemia without liver disease. *Lancet* 1993;341:464-65.
- (101) Persico M, Persico E, Suozzo R, Conte S, De Seta M, Coppola L, et al. Natural history of hepatitis C virus carriers with persistently normal aminotransferase levels. *Gastroenterology* 2000;118:760-64.
- (102) Jamal MM, Soni A, Quinn PG, Wheeler DE, Arora S, Johnston DE. Clinical features of hepatitis C-infected with persistently normal alanine transaminase levels in the southwestern United States. *Hepatology* 1999; 30: 1307-11.
- (103) Mathurin P, Moussalli J, Cadranel J-F, Thibault V, Charlotte F, Dumouchel P, et al. Slow progression rate of fibrosis in hepatitis C virus patients with persistently normal alanine transaminase activity. *Hepatology* 1998;27:868-72.
- (104) Gordon SC, Fang JW, Silverman AL, McHutchison JG, Albrecht JK. The significance of baseline serum alanine aminotransferase on pretreatment disease characteristics and response to antiviral therapy in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2000;32:400-04.

- (105) Castera L, Le Bail B, Roudot-Thoraval F, Bernard PH, Foucher J, Merrouche W, et al. Early detection in routine clinical practice of cirrhosis and oesophageal varices in chronic hepatitis C: Comparison of transient elastography (FibroScan) with standard laboratory tests and non-invasive scores. *J Hepatol* 2009;50:59-68.
- (106) Morillas RM. Monitorización y biopsia. *Gastroenterol Hepatol* 2006;29:121-24.
- (107) Documento de consenso de la AEEH sobre el tratamiento de las infecciones por los virus de las hepatitis B y C. *Gastroenterol Hepatol* 2006; 29 (supl. 2): 216-30.
- (108) Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, Balan V, Diago M, Marcellin P, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140:346-55.
- (109) Dienstag JL, McHutchison JG. American Gastroenterological Association medical position statement on the management of hepatitis C. *Gastroenterology* 2006;130:225-230.
- (110) Radkoski M, Gallegos-Orozco JE, Jablonska J, Colby TV, Walewsa-Zielecka B, Kubicka J, et al. Persistence of hepatitis C virus in patients successfully treated for chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2005;41:106-14.
- (111) Poynard T, McHutchison J, Davis GL, Esteban-Mur R, Goodman Z, Bedossa P, et al. Impact of interferon alfa-2b and ribavirin on progression of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2000;32:1131-37.

- (112) Poynard T, McHutchison J, Manns M, Trepo C, Lindsay K, Goodman Z, et al. Impact of pegylated interferon alfa-2b and ribavirin on liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2002;122:1303-13.
- (113) Everson GT, Shiffman M, Hoefs JC, Sterling RK, Timothy RM, De Santo J, et al. Hepatic function improves after sustained virologic response in hepatitis C patients with advanced fibrosis and cirrhosis: results of the lead-in phase of the HALT-C trial. Program and abstract of the 56th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases; November 11-15, 2005; San Francisco, California. Abstract 1265. *Hepatology* 2005;42:697A-697A.
- (114) Bruno S, Stroffoline T, Bollani S, Benvengù L, Persico M, Ascione A, et al. Long term outcome of patients with HCV-related Child's class A cirrhosis treated with interferon alpha (IFN). The impact of sustained virologic response (SVR) on hepatocellular carcinoma (HCC) occurrence and mortality. Program and abstract of the 56th Annual Meeting of the American. *Hepatology* 2005;42:229A-230^a.
- (115) Ladero JM, López-Alonso G, Devesa MJ, Cuenca F, Agreda M, Ortega L, et al. "12 weeks' stopping rule" in the treatment of genotype 1 chronic hepatitis C: Two prognostic categories under the same label?. *Scand J Gastroenterol.* 2008;43:979-83.
- (116) Hoofnagle JH, Mullen KD, Jones DB, Rustgi V, Di Bisceglie A, Peters M, et al. Treatment of chronic non-A,non-B hepatitis with recombinant human alpha interferon. A preliminary report. *N Engl J Med* 1986;315:1575-78.

- (117) Hoofnagle JH, Seef LB. Peginterferon and ribavirin for chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 2006;355:2444-51.
- (118) Brillianti S, Garson J, Folli M, Whitby K, Deaville R, Masci C, et al. A pilot study of combination therapy with ribavirin plus interferon for interferon alfa-resistant chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 1994;107:812-17.
- (119) McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, Mitchell L, Lee WM, Rustgi VK, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med*. 1998;339:1485-92.
- (120) Poynard T, Marcellin P, Lee S, Niederau C, Minuk GS, Ideo G, et al. Randomised trial of interferon alfa-2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alfa2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. International Hepatitis Interventional Therapy Group (IHIT). *Lancet*. 1998;353:1426-32.
- (121) Di Bisceglie AM, Ghalib RH, Hamzeh FM, Rustgi VK. Early virologic response after peginterferon alpha-2a plus ribavirin or peginterferon alpha-2b plus ribavirin treatment in patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat*. 2007;14:721-29.
- (122) Perrillo R, Rothstein KD, Rubin R, Alam I, Imperial J, Harb G, et al. Comparison of quality of life, work productivity and medical resource utilization of peginterferon alpha 2a vs the combination of interferon alpha 2b plus ribavirin as initial treatment in patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat*. 2004;11:157-65.

- (123) Schalm SW, Hansen B, Chemello L, Bellobuono A, Brouwer JT, Weiland O, et al. Ribavirin enhances the efficacy but not the adverse effects of interferon in chronic hepatitis C: A meta-analysis of individual patients data from European centers. *J Hepatol* 1997;26:961-66.
- (124) Reichard O, Norkrans G, Fryden A, Braconier JH, Sonnerborg A, Weiland O. Randomised, double-blind, placebo-controlled trial of interferon alfa-2b with and without ribavirin for chronic hepatitis C. *Lancet* 1998; 351:83-87.
- (125) Manns M, Mc Hutchison JG, Gordorn S, Rustgi V, Lee MV, Ling ML, et al. Pegylated interferon alpha 2b (PEG IFN) plus ribavirin (R) for treatment of chronic hepatitis C: Optimization of ribavirin dose. *J Hepatol* 2001;34:236-36.
- (126) Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, Smith C, Marinos G, Goncales FL, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002;347:975-82.
- (127) Bronowicki JP, Ouzan D, Asselah T, Desmorat H, Zarski JP, Foucher J, et al. Effect of ribavirin in genotype 1 patients with hepatitis C responding to pegylated interferon alfa-2a plus ribavirin. *Gastroenterology* 2006;131:1040-48.
- (128) Bonny C, Roche C, Randl K, Ughetto S, Henquell C, Martineau N, et al. Treatment of interferon-naïve patients with HCV genotype 5 with interferon (or PEG-interferon) plus ribavirin results in a very high sustained virologic response. *Hepatology* 2003;38:1203.
- (129) Legrand-Abravanel F, Sandres-Saune K, Barange K, Alric L, Moreau J, Desmorat P, et al. Hepatitis C virus genotype 5: epidemiological

characteristics and sensitivity to combination therapy with interferon-alpha plus ribavirin. *J Infect Dis* 2004;189:1397-1400.

(130) Derbala M, Amer A, Bener A, Lopez AC, Omar M, El Ghannam M. Pegylated interferon-alpha 2b-ribavirin combination in Egyptian patients with genotype 4 chronic hepatitis. *J Viral Hepat* 2005;12:380-85.

(131) Legrand-Abravanel F, Nicot F, Boulestin A, Sandres-Saune K, Vinel JP, Alric L, et al. Pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C virus genotype 4 infection. *J Med Virol* 2005;77:66-69.

(132) Kamal SM, El Tawil AA, Nakano T, He Q, Rasenack J, Hakam SA, et al. Peginterferon {alpha}-2b and ribavirin therapy in chronic hepatitis C genotype 4: impact of treatment duration and viral kinetics on sustained virological response. *Gut* 2005;54:858-66.

(133) Yu ML, Dai CY, Huang JF, Chiu CF, Yang YH, Hou NJ, et al. Rapid virological response and treatment duration for chronic hepatitis C genotype 1 patients: a randomized trial. *Hepatology* 2008;47:1884-93.

(134) Dalgard O, Bjoro K, Hellum KB, Myrvang B, Ritland S, Skaug K, et al. Treatment with pegylated interferon and ribavirin in HCV infection with genotype 2 or 3 for 14 weeks: a pilot study. *Hepatology* 2004;40:1260-65.

(135) Mangia A, Santoro R, Minerva N, Ricci GL, Carreta V, Pésico M, et al. Peginterferon Alfa-2b and Ribavirin for 12 vs. 24 weeks in HCV Genotype 2 or 3. *N Engl J Med*. 2005;325:1609-17.

(136) Von Wagner M, Huber M, Berg T, Hinrichsen H, Rasenack J, Heintges T, et al. Peginterferon-alpha-2a (40KD) and ribavirin for 16 or 24 weeks in

patients with genotype 2 or 3 chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2005;129:522-27.

(137) Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, Rustgi VK, Shiffman M, Reindollar R, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 2001;358:958-65.

(138) Pau AK, McLaughlin MM, Hu Z, Agyemang AF, Polis MA, Kottlilil S. Predictors for hematopoietic growth factors use in HIV/HCV-coinfected patients treated with peginterferon alfa 2b and ribavirin. *AIDS Patient Care STDS* 2006;20:612-19.

(139) Younossi ZM, Nader FH, Bai C, Sjogren R, Ong JP, Collantes R, et al. A phase II dose finding study of darbepoetin alpha and filgrastim for the management of anaemia and neutropenia in chronic hepatitis C treatment. *J Viral Hepat.* 2008;15:370-78.

(140) Lee Brunner A., Ladero Quesada JM, López Alonso G, Devesa Medina MJ, Cuenca Alarcón F, Romero Reina AI, et al. Efectos adversos en el tratamiento antiviral combinado con interferón pegilado y ribavirina en la hepatitis crónica por virus C” (comunicacion). *Semana de las Enfermedades Digestivas*, Sitges, 5-8 junio 2008.

(141) Ning Q, Brown D, Parodo J, Catral M, Gorczynski R, Cole E, et al. Ribavirin inhibits viral-induced macrophage production of TNF, IL-1, the procoagulant fgl2 prothrombinase and preserves Th1 cytokine production but inhibits Th2 cytokine response. *J Immunol* 1998;160:3487-93.

- (142) Crotty S, Maag D, Arnold JJ, Zhong WD, Lau JYN, Hong Z, et al. The broad-spectrum antiviral ribonucleoside ribavirin is an RNA virus mutagen. *Nat Med* 2000;6:1375-79.
- (143) Dixit NM, Layden-Almer JE, Layden TJ, Perelson, AS. Modelling how ribavirin improves interferon response rates in hepatitis C virus infection. *Nature* 2004; 432:922-24.
- (144) Dusheiko G, Main J, Thomas H, Reichard O, Lee C, Dhillon A, et al. Ribavirin treatment for patients with chronic hepatitis C: Results of a placebo-controlled study. *J Hepatol* 1996;25:591-98.
- (145) Di Bisceglie AM, Conjeevaram HS, Fried MW, Sallie R, Park Y, Yurdaydin C, et al. Ribavirin as therapy for chronic hepatitis C. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 1995; 123:897-903.
- (146) Bodenheimer HC, Lindsay KL, Davis GL, Lewis JH, Thung SN, Seeff LB, et al. Tolerance and efficacy of oral ribavirin treatment of chronic hepatitis C: A multicenter trial. *Hepatology* 1997;26:473-77.
- (147) Pawlotsky JM, Dahari H, Neumann AU, Hezode C, Germanidis G, Lonjon I, et al. Antiviral action of ribavirin in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2004;126:703-14.
- (148) Brok J, Gluud LL, Gluud C. Ribavirin monotherapy for chronic hepatitis c infection: a cochrane hepato-biliary group systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Am J Gastroenterol* 2006;101:842-47.
- (149) Hoofnagle JH, Ghany MG, Kleiner DE, Doo E. Maintenance therapy with ribavirin in patients with chronic hepatitis C who fail to respond to

combination therapy with interferon alfa and ribavirin. *Hepatology* 2003;38:66-74.

(150) Jacobson I, Brown RS, Freilich B, Afdhal N, Kwo P, Santoro J, et al. Weight-based ribavirin dosing increases sustained viral response in patients with hepatitis C: Final results of the WIN-R study, a US community-based trial. *Hepatology* 2005;42:749A.

(151) Snoeck E, Wade JR, Duff F, Lamb M, Jorga K. Predicting sustained virological response and anaemia in chronic hepatitis C patients treated with peginterferon alfa-2a (40KD) plus ribavirin. *Br J Clin Pharmacol.* 2006;62:699-709.

(152) Jacobson IM, Brown RS Jr, McCone J, Black M, Albert C, Dragutsky MS, et al. Impact of weight-based ribavirin with peginterferon alfa-2b in African Americans with hepatitis C virus genotype 1. *Hepatology* 2007;46:982-90.

(153) Maynard M, Pradat P, Gagnieu MC, Souvignet C, Trepo C. Prediction of sustained virological response by ribavirin plasma concentration at week 4 of therapy in hepatitis C virus genotype 1 patients. *Antivir Ther.* 2008;13:607-11.

(154) Del Rio RA, Post AB, Singer ME. Cost-effectiveness of hematologic growth factors for anemia occurring during hepatitis C combination therapy. *Hepatology* 2006;44:1598-1606.

(155) Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, Hoefs J, Gordon SC, Trepo C, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1998;339:1493-99.

- (156) Berenguer M. Treatment of chronic hepatitis C in hemodialysis patients. *Hepatology* 2008;48:1690-99.
- (157) Ucmak H, Kokoglu OF, Hosoglu S, Dogan E, Sayarlioglu H, Kuzhan N, et al. Long-term efficacy of pegylated interferon alpha-2a in HCV-positive hemodialysis patients. *Ren Fail* 2008;30:227-32
- (158) Alberti A, Benvegua L, Boccatoa A, Ferrria G. Natural history of initially mild chronic hepatitis C. *Dig Liver Dis* 2004;36:646-54.
- (159) Hassanein TI, Cooksley G, Sulkowski M, Smith C, Marinos G, Lay MG, et al. The impact of peginterferon alpha-2a plus ribavirina combination therapy on health-quality of life in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2004;40:675-83.
- (160) El Braks R, Ganne-Carrie N, Fontaine H, Paries J, Grando-Lemaire V, Beaugrand M et al. Effect of sustained virological response on long-term clinical outcome in 113 patients with compensated hepatitis C-related cirrhosis treated by interferon alpha and ribavirin. *World J Gastroenterol* 2007;13: 5648-53.
- (161) Barbaro G, Di Lorenzo G, Belloni G, Ferrari L, Paiano A, Del Poggio P, et al. Interferon alpha-2b and ribavirin in combination for patients with chronic hepatitis C who failed to respond to, or relapsed after, interferon alpha therapy: A randomized trial. *Am J Med* 1999;107:112-18.
- (162) Cheng SJ, Bonis PAL, Lau J, Pham NQ, Wong JB. Interferon and ribavirin for patients with chronic hepatitis C who did not respond to previous interferon therapy: A meta-analysis of controlled and uncontrolled trials. *Hepatology* 2001; 33:231-40.

- (163) Cummings KJ, Lee SM, West ES, Cid-Ruzafa J, Fein SG, Aoki Y, et al. Interferon and Ribavirin vs Interferon Alone in the Re-treatment of Chronic Hepatitis C Previously Nonresponsive to Interferon: A Meta-analysis of Randomized Trials. *JAMA* 2001;285:193-99.
- (164) Di Bisceglie AM, Thompson J, Smith-Wilkaitis N, Brunt EM, Bacon BR. Combination of interferon and ribavirin in chronic hepatitis C: Re-treatment of nonresponders to interferon. *Hepatology* 2001;33:704-07.
- (165) Saracco G, Ciancio A, Olivero A, Smedile A, Roffi L, Croce G, et al. A randomized 4-arm multicenter study of interferon alfa-2b plus ribavirin in the treatment of patients with chronic hepatitis C not responding to interferon alone. *Hepatology* 2001;34:133-38.
- (166) Shiffman ML, Di Bisceglie AM, Lindsay KL, Morishima C, Wright EC, Everson GT, et al. Hepatitis C Antiviral Long-term Treatment Against Cirrhosis Trial Group. Peginterferon alfa-2a and Ribavirin in patients with chronic hepatitis C who have failed prior treatment. *Gastroenterology* 2004;126:1015-23.
- (167) Sherman M, Yoshida E, Deschenes M, Kradjen M, Bain V, Peltekian K, et al. Peginterferon alfa-2a (40 kD) plus ribavirin in chronic hepatitis C patients who failed previous interferon-based therapy: results of a multicentre open-label expanded access program in Canada. *J Hepatol.* 2005;42(Suppl2):A603.
- (168) Poynard T, Schiff E, Terg R, Goncales M, Diago M, Reichen J, et al. Sustained virologic response (SVR) in the EPIC3 trial: week twelve virology predicts SVR in previous interferon/ribavirin treatment failures receiving peg-

intron/rebetol (PR) weight-based dosing (WBD). J Hepatol 2005;42(Suppl 2):A96.

(169) Ahmed F, Jacobsen IM. Treatment of relapsers after combination therapy for chronic hepatitis. Infect Dis Clin North Am. 2006;20:137-53.

(170) Di Bisceglie AM, Shiffman ML, Everson GT, Lindsay KL, Everhart JE, Wright EC, et al. Prolonged Therapy of Advanced Chronic Hepatitis C with Low-Dose Peginterferon .N Engl J Med 2008;359:2429-41.

(171) Kogure T, Ueno Y, Fukushima K, Nagasaki F, KondoY, Inoue J et al. Pegylated interferon plus ribavirin for genotype 1b chronic hepatitis C in Japan. World J Gastroenterol 2008;14:7225-30.

(172) López Alonso G, Agreda M, Devesa MJ, Cuenca F, Suárez A, Ortega L, et al. Results of the treatment of chronic hepatitis C genotype 4-a comparative analysis with genotype 1. Rev Esp Enferm Dig 2008;100:208-11.

(173) Hui, CK, Yuen, MF, Sablon, E, Chan AOO, Wong BCY, Lai CL, et al. Interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C virus genotype 6: a comparison with genotype 1. J Infect Dis 2003;187:1071-74.

(174) Nguyen, MH, Keeffe, EB. Prevalence and treatment of hepatitis C virus genotypes 4, 5, and 6. Clin Gastroenterol Hepatol 2005;3(Suppl 2):S97.

(175) Zeuzem S. Heterogeneous virologic response rates to interferon-based therapy in patients with chronic hepatitis C: who responds less well?. Ann Intern Med 2004;40:370-81.

- (176) Zeuzem S, Feinman SV, Rasenack J, Heathcote EJ, Lai MY, Gane E, et al. Peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C. *N Engl J Med*. 2000;343:1666-72.
- (177) Hosogaya S, Ozak Y, Enomoto N, Akahane Y. Analysis of prognostic factors in therapeutic responses to interferon in patients with chronic hepatitis C. *Transl Res* 2006;148:79-86.
- (178) Idrees M, Riazuddin S. A study of best positive predictors for sustained virologic response to interferon alpha plus ribavirin therapy in naive chronic hepatitis C patients. *BMC Gastroenterol* 2009;9:5.
- (179) Poynard T, Colombo M, Bruix J, Schiff E, Terg R, Flamm S, Moreno-Otero R, et al. Peginterferon alfa-2b and Ribavirin: Effective in patients with hepatitis C who failed Interferon-alfa/Ribavirin therapy. *Gastroenterology*. 2009 Jan 22. [Epub ahead of print]
- (180) Romero-Gómez M, Vilorio MM, Andrade RJ, Salmerón J, Diago M, Fernández-Rodríguez CM, et al. Insulin resistance impairs sustained response rate to peginterferon plus ribavirin in chronic hepatitis C patients. *Gastroenterology* 2005;128:636-41.
- (181) Soresi M, Tripi S, Franco V, Giannitrapani L, Alessandri A, Rappa F, et al. Impact of liver steatosis on the antiviral response in the hepatitis C virus-associated chronic hepatitis. *Liver Int* 2006;26:1119-25.
- (182) Conjeevaram HS, Kleiner DE, Everhart JE, Hoofnagle JH, Zacks S, Afdhal NH et al. Race, insulin resistance and hepatic steatosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2007;45:80-87.

- (183) Chu CJ, Lee SD, Hung TH, Lin HC, Hwang SJ, Lee FY, et al. Insulin resistance is a major determinant of sustained virological response in genotype 1 chronic hepatitis C patients receiving peginterferon Alpha-2b plus ribavirin. *Aliment Pharmacol Ther* 2009;29: 46-54.
- (184) Dai CY, Huang JF, Hsieh MY, Hou NJ, Lin ZY, Chen SC, et al. Insulin resistance predicts response to peginterferon-alpha/ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C patients. *J Hepatol* 2009;50:712-8.
- (185) Hoofnagle JH, Wahed AS, Brown RS, Howell CD, Belle SH. Early Changes in Hepatitis C Virus (HCV) Levels in Response to Peginterferon and Ribavirin Treatment in Patients with Chronic HCV Genotype 1 Infection. *J Infect Dis* 2009;199:1112-20.
- (186) Hsu CS, Liu CH, Liu CJ, Chen CL, Lai MY, Chen PJ, et al. Factors affecting early viral load decline of Asian chronic hepatitis C patients receiving pegylated interferon plus ribavirin therapy. *Antivir Ther* 2009;14:45-54.
- (187) Zeuzem S, Fried MW, Reddy K, et al. Improving the clinical relevance of pre-treatment viral load as a predictor of sustained virological response (SVR) in patients infected with hepatitis C genotype 1 treated with peginterferon alfa-2a (40KD) (Pegasys®) plus Ribavirin (Copegus®). 57th Annual meeting of The American Association for the study of Liver Diseases, Boston 2006. *Hepatology* 2006;44:267A-268A.
- (188) Martinot-Peignoux M, Ripault MP, Maylin S, Boyer N, Giully N, Castelnau C, et al. Optimal pre-treatment viral load cutoff to predict treatment outcome in patients with chronic hepatitis C treated with peginterferon alfa-2b

plus ribavirin. 42nd Annual Meeting of the EASL, Barcelona 2007. J Hepatol 2007;46:S234.

(189) Bressler BL, Guindi M, Tomlinson G, Heathcote J. High body mass index is an independent risk factor for nonresponse to antiviral treatment in chronic hepatitis C. Hepatology 2003;38:639-44.

(190) Jeffers LJ, Cassidy W, Howell CD, Hu S, Reddy KR. Peginterferon alfa-2a (40 kd) and ribavirin for black American patients with chronic HCV genotype 1. Hepatology 2004;39:1702-08.

(191) Muir AJ, Bornstein JD, Killenberg PG. Peginterferon alfa-2b and ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C in blacks and non-Hispanic whites. N Engl J Med 2004;350:2265-71.

(192) Loguercio C, Federico A, Masarone M, Torella R, Blanco CD, Persico M. The Impact of Diet on Liver Fibrosis and on Response to Interferon Therapy in Patients With HCV-Related Chronic Hepatitis. Am J Gastroenterol 2008;103:3159-66.

(193) Okamoto H, Kurai K, Okada S, Yamamoto K, Lizuka H, Tanaka T, et al. Full-length sequence of a hepatitis C virus genome having poor homology to reported isolates: comparative study of four distinct genotypes. Virology 1992;188:331-41.

(194) Polyak SJ, Khabar KS, Rezeiq M, Gretch DR. Elevated levels of interleukin-8 in serum are associated with hepatitis C virus infection and resistance to interferon therapy. J Virol 2001;75:6209-11.

- (195) Duverlie G, Khorsi H, Castelain S, Jaillon O, Izopet J, Lunel F, et al. Sequence analysis of the NS5A protein of European hepatitis C virus 1b isolates and relation to interferon sensitivity. *J Gen Virol* 1998;79:1373-81.
- (196) Veillon P, Payan C, Le Guillou-Guillemette H, Gaudy C, Lunel F. Quasispecies evolution in NS5A region of hepatitis C virus genotype 1b during interferon or combined interferon-ribavirin therapy. *World J Gastroenterol* 2007;13:1195-203.
- (197) Yen YH, Hung CH, Hu TH, Chen CH, Wu CM, Vvang JH, et al. Mutations in the interferon sensitivity-determining region (nonstructural 5A amino acid 2209-2248) in patients with hepatitis C-1b infection and correlating response to combined therapy of pegylated interferon and ribavirin. *Aliment Pharmacol Ther* 2008;27:72-79.
- (198) Hung CH, Lee CM, Lu SN, Lee JF, Wang JH, Tung HD, et al. Mutations in the NS5A and E2-PePHD region of hepatitis C virus type 1b and correlation with the response to combination therapy with interferon and ribavirin. *J Viral Hepat* 2003;10:87-94.
- (199) Enomoto S, Tamai H, Oka M, Shingaki N, Shiraki T, Takeuchi M, et al. Potent induction therapy with interferon and ribavirin combination therapy does not achieve a higher sustained virological response rate in chronic hepatitis C with genotype 1b and high hepatitis C virus RNA level. *Hepatol Res* 2007;37:692-700.
- (200) Dal Pero F, Tang KH, Gerotto M, Bortoletto G, Paulon E, Herrmann E, et al. Impact of NS5A sequences of hepatitis C virus genotype 1a on early

viral kinetics during treatment with peginterferon-alpha 2a plus ribavirin. J Infect Dis 2007;196:998-1005.

(201) Lam AM, Keeney D, Eckert PQ, Frick DN. Hepatitis C virus NS3 ATPases/helicases from different genotypes exhibit variations in enzymatic properties. J Virol 2003;77:3950-61.

(202) Abbate I, Lo Iacono O, Di Stefano R, Cappiello G, Girardi E, Longo R, et al. HVR-1 quasispecies modifications occur early and are correlated to initial but not sustained response in HCV-infected patients treated with pegylated- or standard-interferon and ribavirin. J Hepatol 2004;40:831-36.

(203) Perni RB, Almquist SJ, Byrn RA, Chandorkar G, Chaturvedi PR, Courtney LF, et al. Preclinical profile of VX-950, a potent, selective, and orally bioavailable inhibitor of hepatitis C virus NS3-4A serine protease. Antimicrob Agents Chemother 2006;50:899-909.

(204) Hezode C, Ferenci P, Dusheiko GM, Pol S, Goeser T, Bronowicki JP, et al. PROVE2: phase II study of VX950 (TELAPREVIR) in combination with Peginterferon alfa-2a with or without ribavirin in subjects with chronic hepatitis C, First interim analysis. AASLD 2007, Boston. Hepatology 2007;46:268A-269A.

(205) Rodríguez-Torres M, Lawitz EJ, Mc Hutchinson JG. Final result of patients treated with peginterferon alfa-2a and Ribavirin follow on therapy after 28 day treatment with the hepatitis C protease inhibitor Telaprevir (VX950), peginterferon and Ribavirin. Abstract AASLD 2007, Boston.

- (206) Jacobson IM, Everson GT, Gordon SC, Kauffman R, McNair L, Muir A, et al. Interim analysis result from a phase 2 study of telaprevir with peginterferon alfa-2a and ribavirin in treatment naïve subjects with hepatitis C. AASLD 2007, Boston. Hepatology 2007;46:315A-316A.
- (207) Dusheiko GM, Hezode C, Pol S, Groeser T, Bronowicki JP, Bourliere M, et al. Treatment of chronic hepatitis C with telaprevir (TVR) in combination with peginterferon alfa-2a with or without ribavirin: Further interim analysis results of the PROVE2 study. 43rd Annual Meeting of the EASL, Milan 2008. J Hepatol 2008;48:S26(A58).
- (208) Schering-Plough. Top-line results of boceprevir phase II study showed high rate of sustained response (SVR) in genotype 1 treatment-naïve hepatitis C patients.
Available from: http://www.scheringplough.com/schering_plough/news/release.jspreleaseID=1182855. Accessed September 19, 2008.
- (209) Llinàs-Brunet M, Bailey MD, Bolger G, Brochu C, Faucher AM, Ferland JM, et al. Structure-activity study on a novel series of macrocyclic inhibitors of the hepatitis C virus NS3 protease leading to the discovery of BILN 2061. J Med Chem 2004;47:1605-08.
- (210) Pockros PJ, Nelson D, Godofsky E, Rodriguez-Torres M, Everson GT, Fried MW, et al. R1626 plus peginterferon Alfa-2a provides potent suppression of hepatitis C virus RNA and significant antiviral synergy in combination with ribavirin. Hepatology 2008;48:385-97.
- (211) Lalezari J, Gane E, Rodriguez-Torres M, De Jesus D, Nelson G, Everson G, et al. Potent antiviral activity of the HCV nucleoside polymerase

inhibitor R7128 with PEG-IFN and ribavirin: interim results of R7128 500 mg bid for 28 days. *J Hepatol* 2008;48:S29A66.

(212) Afdhal NH, O'Brien C, Godofsky E, Rodriguez-Torres M, Pappas SC, Pockros P, et al. Valopicitabine (NM283), alone or with peg-interferon, compared to peg-interferon/ribavirin (PEGIFN/RBV) retreatment in hepatitis C patients with prior nonresponse to PEGIFN/RBV: week 24 results. 42nd Annual Meeting of EASL. *J Hepatol* 2006; 44: S19A39.

(213) Cooper C, Lawitz EJ, Ghali P, Rodriguez-Torres M, Anderson FH, Lee SS, et al. Antiviral activity of the non-nucleoside polymerase inhibitor, VCH-759, in chronic Hepatitis C patients: results from a randomized, double-blind, placebo-controlled, ascending multiple dose study. 58th Annual Meeting of the AASLD, Boston, 2007. *Hepatology* 2007;46:864A.

(214) Nelson DR, Rustgi V, Balan V, Sulkowski MS, Davis GL, Muir AJ, et al. Safety and antiviral activity of albinterferon alfa-2b in prior interferon nonresponders with chronic hepatitis C. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009;7:212-18.

(215) Angelico M, Koehler-Horst B, Piccolo P, Angelico F, Gentile S, Francioso S, et al. Peginterferon alpha-2a and ribavirin versus peginterferon alpha-2a monotherapy in early virological responders and peginterferon alpha-2a and ribavirin versus peginterferon alpha-2a, ribavirin and amantadine triple therapy in early virological nonresponders: the SMIEC II trial in naïve patients with chronic hepatitis C. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2008;20:680-87.

- (216) Buti M, Valdes A, Sanchez-Avila F, Esteban R, Lurie Y. Extending combination therapy with peginterferon alfa-2b plus ribavirin for genotype 1 chronic hepatitis C late responders: a report of 9 cases. *Hepatology* 2003;37:1226-27.
- (217) Sanchez-Tapias JM, Diago M, Escartin P, Enriquez J, Romero-Gomez M, Barcena R, et al. Peginterferon-alfa2a plus ribavirin for 48 versus 72 weeks in patients with detectable hepatitis C virus RNA at week 4 of treatment. *Gastroenterology* 2006;131:451-60.
- (218) Berg T, von Wagner M, Nasser S, Sarrazin C, Heintges T, Gerlach T, et al. Extended treatment duration for hepatitis C virus type 1: comparing 48 versus 72 weeks of peginterferon-alfa-2a plus ribavirin. *Gastroenterology* 2006;130:1086-97.
- (219) Fuster D, Planas R, Gonzalez J, Force L, Cervantes M, Vilaro J, et al. Results of a study of prolonging treatment with pegylated interferon-alfa2a plus ribavirin in HIV/HCV-coinfected patients with no early virological response. *Antivir Ther* 2006;11:473-82.
- (220) Núñez M, Miralles C, Berdun MA, Losada E, Aguirre-bengoia K, Ocampo A, et al. Role of weight-based ribavirin dosing and extended duration of therapy in chronic hepatitis C in HIV-infected patients: the PRESCO trial. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2007;23:972-82.
- (221) Pearlman BL, Ehleben C, Saiffee S. Treatment extension to 72 weeks of peginterferon and ribavirin in hepatitis C genotype 1-infected slow responders. *Hepatology* 2007;46:1688-94.

- (222) Mangia A, Minerva N, Bacca D, Cozzolongo R, Ricci GL, Carretta V, et al. Individualized treatment duration for hepatitis C genotype 1 patients: A randomized controlled trial. *Hepatology* 2008;47:43-50.
- (223) Fried MW, Jensen DM, Rodriguez-Torres M, Nyberg LM, Di Bisceglie AM, Morgan TR, et al. Improved outcomes in patients with hepatitis C with difficult-to-treat characteristics: Randomized study of higher doses of peginterferon alpha-2a and ribavirin. *Hepatology* 2008;48:1033-43.
- (224) Diago M, Crespo J, Oliveira A, Pérez R, Bárcena R, Sanchez-Tapias JM, et al. Clinical trial: pharmacodynamics and pharmacokinetics of re-treatment with fixed-dose induction of peginterferon alfa-2a in hepatitis C virus genotype 1 true non-responders patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;26:1131-38.
- (225) Mimidis K, Papadopoulos VP, Elefsiniotis I, Kolioukas D, Ketikoglou I, Paraskevas E, et al. Hepatitis C virus survival curve analysis in naïve patients treated with peginterferon alpha-2b plus ribavirin. A randomized controlled trial for induction with high doses of peginterferon and predictability of sustained viral response from early virologic data. *J Gastrointest Liver Dis* 2006;13:213-19.
- (226) Gelderblom HC, Zaaijer HL, Dijkgraaf MG, Van der Meer J, Weegink CJ, Jansen PLM, et al. Prediction of virologic response in difficult-to-treat chronic hepatitis C patients during high-dose interferon induction therapy. *Scand J Gastroenterol* 2008;43:857-69.
- (227) Jensen DM, Marcellin P. Rationale and design of the REPEAT study: a phase III, randomized, clinical trial of peginterferon alfa-2a (40 kDa) plus

ribavirin in non-responders to peginterferon alfa-2b (12 kDa) plus ribavirin. *E J Gastroenterol Hepatol* 2005;17:899-904.

(228) Jensen DM, Freilich B, Andreone P, DiBisceglie A, Brandao-Mello CE, Reddy KR, et al. Pegylated interferon alfa-2A (40KD) plus ribavirin (RBV) in prior non-responders to pegylated interferon alpha-2B (12KD)/RBV: Final efficacy and safety outcomes of the repeat study. 58th Annual Meeting of the American-Association-for-the-Study-of-Liver-Diseases. *Hepatology* 2007;46: 291A-292.

(229) Marcellin P, Craxi A, Brandao-Mello CE, Di Bisceglie AM, Andreone P, Freilich, B, et al. A 72-week treatment duration with peginterferon alfa-2a (40kd) (pegasys) plus ribavirin (copegus) has a favorable risk: benefit ratio in non-responders to pegylated interferon alfa-2b (12kd) plus ribavirin: findings of the multinational REPEAT study. 59th Annual Meeting of the American-Association-for-the-Study-of-Liver-Diseases, San Francisco CA 2008. *Hepatology* 2008; 48:1147A.

(230) Yoshida EM, Sherman M, Bain VG, Cooper CL, Deschênes M, Marotta PJ, et al. Re-treatment with peginterferon alfa-2a and ribavirin in patients with chronic hepatitis C who have relapsed or not responded to a first course of pegylated interferon-based therapy. *Can J Gastroenterol* 2009;23:180-84.

(231) Marcellin P, Freilich B, Andreone R, DiBisceglie A, Brandao CE, Reddy KR, et al. Type of response to prior pegylated interferon alfa-2b (12KD)/RBV predicts subsequent response to retreatment with peginterferon

alfa-2a (40KD)/RBV. 43rd Annual Meeting of the European-Association-for-the-Study-of-the-Liver. J Hepatol 2008;48:S301-S301.

(232) Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Suzuki Y, et al. Efficacy of low-dose intermittent interferon-alpha monotherapy in patients infected with hepatitis C virus genotype 1b who were predicted or failed to respond to pegylated interferon plus ribavirin combination therapy. J Med Virol 2008;80:1363-69.

(233) Haque M, Yoshida EM. Hepatitis C antiviral long-term treatment against cirrhosis (HALT-C) trial. Annals of Hepatol 2009;8:78-79.

(234) Economou MS, Filis S, Christodoulou D, Christou L, Tsianos EV. Treatment and retreatment in patients with chronic hepatitis C: 10 years clinical practice in a single centre. Liver Int 2007;27:340-46.

(235) Forns X, Matuenda MD, López-Labrador FX, Ámpurdanès S, Olmedo E, Costa J, et al. Comparative study of three methods for genotyping hepatitis C virus strains in samples from Spanish patients. J Clin Microbiol 1996;34:2516-21.

(236) López-Labrador FX, Ampurdanés S, Forns X, Castells A, Sáiz JC, Costa J, et al. Hepatitis C virus (HCV) genotypes in Spanish patients with HCV infection: relationship between HCV genotype 1b, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. J Hepatol 1997;27:959-965.

(237) Arase Y, Suzuki F, Sezaki H, Suzuki Y, Kawamura Y, Kobayashi M, et al. Suitable treatment period in patients with virological response during combination therapy of peginterferon and ribavirin for chronic hepatitis C. Intern Med 2008;47:1301-07.

- (238) Foster GR, Fried MW, Hadziyannis SJ, Messinger D, Freivogel K, Weiland O. Prediction of sustained virological response in chronic hepatitis C patients treated with peginterferon alfa-2a (40KD) and ribavirin. *Scand J Gastroenterol* 2007;42:247-55.
- (239) McHutchison JG, Poynard T, Pianko S, Gordon SC, Reid AE, Dienstag J, et al. The impact of interferon plus ribavirin on response to therapy in black patients with chronic hepatitis C. The International Hepatitis Interventional Therapy Group. *Gastroenterology* 2000;119:1317-23.
- (240) Layden-Almer JE, Ribeiro RM, Wiley T, Perelson AS, Layden TJ. Viral dynamics and response differences in HCV-infected African American and white patients treated with IFN and ribavirin. *Hepatology* 2003;37:1343-50.
- (241) Craxi A, Piccinino F, Alberti A, Ascioni A, Rizzetto C, Lannacone C, et al. Predictors of SVR in naïve HCV G1 patients in real life practice: the probe. *J Hepatol* 2008 (suppl 2);48:S291.
- (242) Villela-Nogueira CA, Perez RM, Soares JA, Coelho HSM. Gamma-glutamyl transferase (GGT) as an independent predictive factor of sustained virologic response in patients with hepatitis C treated with interferon-alpha and ribavirin, *J Clin Gastroenterol* 2005;39:728-730.
- (243) Bergmann JF, Vrolijk JM, van der Schaar P, Vroom B, van Hoek B, van der Sluys Veer A, et al. Gamma-glutamyltransferase and rapid virological response as predictors of successful treatment with experimental or standard peginterferon-alpha-2b in chronic hepatitis C non-responders. *Liver Int* 2007;27:1217-25.

- (244) Buti M, Lurie Y, Blokhina N, Teuber G, Holota W, Sumskiene J, et al. Pegylated interferon alfa-2b plus ribavirin in patients with genotype 1 chronic hepatitis C with a slow virologic response: an early enrollers analysis of the SUCCESS study. *Hepatology* 2006;44:342A.
- (245) Marcellin P, Akrimi R, Cazals D, Boyer N, Aupérin A, Vidaud D, et al. Genotype 1 is associated with a slower progression of fibrosis in untreated patients with mild chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2001;34(Supl 1):A159.
- (246) Park GJ, Lin BP, Ngu MC, Jones DB, Katelaris PH. Aspartate aminotransferase-alanine aminotransferase ratio in chronic hepatitis C infection: is it a useful predictor of cirrhosis? *J Gastroenterol Hepatol* 2000;15: 386-90.
- (247) Xie Y, Xu DZ, Lu ZM, Luo KX, Jia JD, Wang YM, et al. Predictive factors for sustained response to interferon treatment in patients with chronic hepatitis C: a randomized, open, and multi-center controlled trial. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2005;4:213-19.
- (248) Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Suzuki Y et al. Predictive factors of early and sustained responses to peginterferon plus ribavirin combination therapy in Japanese patients infected with hepatitis C virus genotype 1b: amino acid substitutions in the core region and low-density lipoprotein cholesterol levels. *J Hepatol* 2007;46:403-10.
- (249) Del Valle J, Mira JA, de los Santos I, López-Cortés LF, Merino D, Rivero A et al. Baseline serum low-density lipoprotein cholesterol levels predict response to hepatitis C virus therapy in HIV/hepatitis C virus coinfecting patients. *AIDS.* 2008;22:923-30.

- (250) Romero-Gómez M, Fernández-Rodríguez CM, Andrade RJ, Diago M, Alonso S, Planas R et al. Effect of sustained virological response to treatment on the incidence of abnormal glucose values in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2008;48:721-27.
- (251) Antonelli A, Ferri C, Pampana A, Fallahi P, Nesti C, Pasquini M, et al. Thyroid disorders in chronic hepatitis C. *Am J Med* 2004;117:10-13.
- (252) Di Bisceglie AM, Axiotis CA, Hoofnagle JH, Bacon BR. Measurements of iron status in patients with chronic hepatitis. *Gastroenterology* 1992;102:2108-13.
- (253) García-Buey ML, González F. Iron overload and chronic hepatitis C: the role of HFE gene mutations. *Rev Esp Enferm Dig* 2003;95:824-28.
- (254) Lin TJ, Liao LY, Lin CL, Chang TA, Liu SO. Hepatic iron influences responses to combination therapy with peginterferon alfa and ribavirin in chronic hepatitis C. *Hepatogastroenterol* 2008;55:1412-15.
- (255) Ladero JM, López-Alonso G, Devesa MJ, Cuenca F, Ortega L, Agreda M, et al. Oscillations in serum ferritin associated with antiviral therapy in chronic hepatitis C. *Rev Esp Enf Dig* 2009;101:31-40.
- (256) Turbide C, Soulellis CA, Deschenes M, Hilzenra, N. Does a rapid decline in the hematological and biochemical parameters induced by interferon and ribavirin combination therapy for the hepatitis C virus predict a sustained viral response?. *Can J Gastroenterol* 2008;22:149-52.
- (257) Jian Wu Y, Shu Chen L, Gui Qiang W. Effects of fatty liver and related factors on the efficacy of combination antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C. *Liver Int* 2006;26:166-72.

(258) Reddy KR, Govindarajan S, Marcellin P, Bernstein D, Dienstag JL, Bodenheimer H Jr, et al. Hepatic steatosis in chronic hepatitis C: baseline host and viral characteristics and influence on response to therapy with peginterferon alpha-2a plus ribavirin. *J Viral Hepat*. 2008;15:129-36.

.

(259) Harrison SA, Brunt EM, Qazi RA, Oliver DA, Neuschwander-Tetri BA, Di Bisceglie AM, et al. Effect of significant histologic steatosis or steatohepatitis on response to antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005;3:604-09.

(260) Westin J, Lagging M, Dhillon AP, Norkrans G, Romero AI, Pawlotsky JM, et al. Impact of hepatic steatosis on viral kinetics and treatment outcome during antiviral treatment of chronic HCV infection. *J Viral Hepat*. 2007;14:29-35.

(261) Romano M, Vacante M, Cristaldi E, Colonna V, Gargante MP, Cammalleri L, et al. L-carnitine treatment reduces steatosis in patients with chronic hepatitis C treated with alpha-interferon and ribavirin. *Dig Dis Sci* 2008;53:1114-21.

(262) Martinot-Peignoux M, Boyer N, Pouteau M, Castelnau C, Giully N, Duchatelle V, et al. Predictors of sustained response to alpha interferon therapy in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 1998;29:214-23.

(263) Camma C, Di Marco V, Lo Iacono O, Almasio P, Giunta M, Fuschi P, et al. Long-term course of interferon-treated chronic hepatitis C. *J Hepatol* 1998;28:531-37.

- (264) Veldt BJ, Heathcote EJ, Wedemeyer H, Reichen J, Hofmann P, Zeuzem S, et al. Sustained virologic response and clinical outcomes in patients with chronic hepatitis C and advanced fibrosis. *Ann Intern Med.* 2007;147:677-84
- (265) Zehnter E, Mauss S, John C, Heyne R, Moller B, Lulz T, et al. Better prediction of SVR patients with HCV genotype 1 with peginterferon alfa-2a plus ribavirin: improving differentiation between low and high baseline viral load. 57th Annual meeting of The American Association for the study of Liver Diseases, Boston 2006. *Hepatology* 2006;44:328A.
- (266) Iqbal SU, Cunningham F, Lee A, Miller DR, Li NC, Cheung R, et al. Persistence with hepatitis C therapy in the Department of Veterans Affairs. *J Clin Pharm Ther.* 2008;33:251-61.
- (267) Scotto G, Fazio V, Fornabaio C, Tartaglia A, Di Tullio R, Saracino A, et al. Early and sustained virological response in non-responders with chronic hepatitis C: a randomized open-label study of pegylated interferon-alpha-2a versus pegylated interferon-alpha-2b. *Drugs* 2008;68:791-801.
- (268) Backus LI, Boothroyd DB, Phillips BR, Mole LA. Predictors of response of U.S. veterans to treatment for the hepatitis C virus. *Hepatology* 2007;46:37-47.
- (269) Martens S, Weich V, Berg T, Sarrazin C, Hinrichsen H, Buggisch P, et al. Genotype-specific assessment of predictive factors for sustained virologic response after standard treatment in patients chronically infected with HCV. 42nd Annual Meeting of the EASL, Barcelona 2007. *J Hepatol* 2007;46:S226.